COLLÈGE DE FRANCE. — E. GLEY : *Travaux du Laboratoire*, t. I.

RECHERCHES
SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE
DES
ICHTYOTOXINES

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ

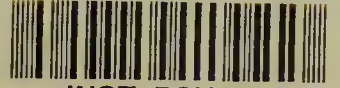
PAR

Lucien CAMUS
CHEF TECHNIQUE DU SERVICE DE LA VACCINE
A L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

E. GLEY
PROFESSEUR AU COLLÈGE DE FRANCE
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1912



RECHERCHES SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE

DES ICHTYOTOXINES

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ

COLLÈGE DE FRANCE. — E. GLEY : *Travaux du Laboratoire*, t. I.

RECHERCHES

SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE

DES

ICHTYOTOXINES

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ

PAR

Lucien CAMUS
CHEF TECHNIQUE DU SERVICE DE LA VACCINE
A L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

E. GLEY
PROFESSEUR AU COLLÈGE DE FRANCE
MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1912

228·13

PRÉFACE

Par E. GLEY

Avec le concours de mon collaborateur et ami Lucien Camus, j'ai réuni dans ce volume, pour en faire apparaître la suite logique et conséquemment l'unité, des études expérimentales entreprises à différents intervalles et qui se trouvent éparses dans des recueils divers. L'intérêt qui s'attache au problème de l'immunité et qui tient surtout, pour le biologiste, à ce que l'application de l'expérimentation à ce problème a révélé une propriété capitale et insoupçonnée de la matière vivante, celle de réaliser de toutes pièces des substances antagonistes de substances toxiques, de telle sorte que ces dernières sont par là neutralisées ou détruites, — cet intérêt justifiera, pensons-nous, la présente publication.

Les travaux que l'on y trouvera ont été commencés et poursuivis pendant plusieurs années à la Faculté de Médecine de Paris, au Laboratoire des travaux pratiques de physiologie, alors que, professeur agrégé à la Faculté, j'étais chef de ce laboratoire et que mon ami L. Camus en était chef adjoint. Nous les avons continués au Collège de France, dans le laboratoire dépendant de la chaire que j'y occupe depuis le commencement de l'année 1908.

La plupart des recherches exposées dans ce livre n'ont pu être menées à bien que grâce aux subventions qui m'ont été accordées par la *Caisse des recherches scientifiques*.

TABLE DES MATIÈRES

RECHERCHES SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE

DES ICHTYOTOXINES

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ

I

INTRODUCTION

Par **E. GLEY**

Il ne sera peut-être pas inutile de marquer tout de suite à grands traits les principaux résultats des recherches que nous avons poursuivies à plusieurs reprises sur les phénomènes d'immunité et sur la nature de l'immunisation déterminés par l'introduction du sérum d'anguille dans l'organisme des Mammifères. Ce sera là comme un rapide résumé synthétique des idées issues des faits expérimentaux dont on pourra lire ci-après les exposés successifs.

Lorsque nous avons découvert, L. Camus et moi, l'action hématolytique du sérum d'anguille, les études d'hémolyse étaient loin d'avoir pris, en pathologie générale, l'importance qu'elles ont acquise peu après. Le fait, établi surtout par les recherches de L. Landois (1874), que le sérum sanguin d'un animal donné dissout les globules rouges d'un animal d'une autre espèce, était resté pour ainsi dire une curiosité, sans qu'on en tirât d'autres conséquences que celles que Landois lui-même

avait indiquées relativement aux dangers de la transfusion du sang. Nos expériences, les travaux de J. Bordet (1898-1899), ceux si importants de P. Ehrlich et de ses collaborateurs, J. Morgenroth et Hans Sachs (à partir de 1899), et les théories nées de ces travaux n'ont pas seulement provoqué une foule de recherches sur le phénomène même de l'hémolyse et sur son mécanisme, mais en ont fait une épreuve de choix pour les études sur l'immunité. Il y a d'ailleurs eu là aussi une question d'ordre technique. Nos recherches en effet avaient donné un moyen commode d'étudier *in vitro* le phénomène de l'immunité ; ce moyen se développa grâce à celles de Bordet et à celles d'Ehrlich [1]. Grande simplification dans la production et l'observation d'un phénomène tenu jusqu'alors pour une réaction si complexe de l'organisme et singulières facilités d'expérimentation !

Étant donné que l'action hémolytique du sérum d'anguille peut être empêchée par un sérum que l'on fait produire à des animaux préparés dans ce but (c'est ce que nous avions fait connaître tout au début de l'année 1898), on était en droit de supposer que les autres sérums globulicides amèneraient, injectés aux doses convenables, la formation dans le sang de substances douées de la propriété de s'opposer à leur action propre. « Il était vraisemblable, a écrit J. Bordet (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1899, XIII, 273-297), qu'on pût arriver à produire des sérums doués de pouvoir antitoxique, capables de s'opposer à l'action destructive exercée sur les globules rouges par certains sérums. En effet, MM. Camus et Gley, Kossel [2] ont montré que des animaux immunisés contre le sérum d'anguille élaborent des substances capables de protéger leurs globules contre l'action dissolvante de ce sérum toxique » (*loc. cit.*,

1. A noter que Ehrlich avait montré dès 1891, dans ses recherches sur l'immunisation contre les phytotoxines (ricine et abrine), la neutralisation *in vitro* d'une toxine par l'antitoxine correspondante.

2. Notre première note sur ce sujet est du 31 janvier 1898 et celle de H. Kossel est du 14 février de la même année. H. Kossel avait donc fait de son côté, et indépendamment de nous, des expériences analogues aux nôtres et qui l'avaient conduit à la même conclusion.

p. 285). L'année suivante, le même auteur disait (*Ibid.*, 1900, XIV, 257-296) : « Nous avons fait voir (ces *Annales*, avril 1899) qu'on peut obtenir une antitoxine (antihémolytique) comparable à eelle que MM. Camus et Gley, Kossel ont préparée et qui neutralise le sérum d'anguille. Le sérum que nous avons décrit s'opposait à l'action hémolytique du sérum de poule » (*loc. cit.*, p. 270).

Notre expérienee avait donc réalisé pour la première fois une *anticytotoxine* ou *anticytolysine*. Jusque-là, on ne connaissait que des propriétés antagonistes de celles des toxines microbiennes (déeouverte des *antitoxines* diphtérique et tétanique par Behring et Kitasato, 1890) ou de celles des toxines végétales (déeouverte de l'antiricine et de l'antiabrine par Ehrlich, 1891), ou eneore des venins des Serpents. La grande et si féconde découverte de Behring s'était en effet vite trouvée renforeée et développée par celle de Ehrlich relativement aux antitoxines des protéines végétales, telles que l'abrine et la ricine, puis (1894) par eelle de A. Calmette et simultanément de C. Phisalix et G. Bertrand eoneernant les antivenins (découverte du sérum antivenimeux). Et voiei que l'on montrait que l'organisme est capable aussi de former des substanees antagonistes de substances destruetriees d'éléments anatomiques. « Les poisons eellulaires d'origine animale, a dit Metchnikoff (in *L'immunité dans les maladies infectieuses*, Paris, 1901, p. 117), ou les eytotoxines, donnent également lieu à la production d'antieorps spéciaux, ou anticytotoxines. L'étude de ees dernières présente un intérêt tout partieulier pour qui s'intéresse à la question de l'immunité au point de vue général. La première découverte de ees antieytotoxines a été faite à propos de l'étude du pouvoir toxique du sérum sanguin d'anguille. MM. Camus et Gley et, indépendamment d'eux, H. Kossel[1] ont démontré que des animaux, traités avec des doses eroissantes de sérum d'anguille, aequièrent une propriété antitoxique qui protège leurs globules contre l'action hémolytique de l'iehtyotoxine, ou substanee toxique du

1. Voyez la note 2 de la page 2.

sang d'anguille. » Cette antiichtyotoxine a maintes fois été donnée comme type des anticytolysines[1].

Ainsi s'est rapidement généralisée la conception des *anticorps* dont on sait toute l'importance actuelle.

La découverte du phénomène anticytotoxique que nous avions déterminé nous a conduit à considérer le mécanisme de l'immunité acquise, due à la production d'anticorps et qui est par conséquent de nature *humorale*, comme profondément distinct du fait de l'immunité naturelle, qui tient à la résistance spéciale de certains éléments anatomiques; celle-ci est une immunité *cytologique*. Et ce qui, indépendamment des autres preuves, montre bien cette différence radicale, c'est que l'on peut, dans certains cas, superposer l'un à l'autre ces deux modes d'immunité. C'est ce que nous avons vu, de même que H. Kossel. « Die Experimente von Kossel, Gley und Camus, Tschistowitch geben auch einen gewissen Hinweiss auf den Mechanismus der Vorgänge; es geht aus ihnen hervor, dass die erste Phase der Immunisierung die der Antitoxinbildung ist, und dass erst im späteren Verlaufe sich die Unempfindlichkeit der roten Blutkörperchen einstellt[2] » (P. Ehrlich, *Schlussbetrachtungen*, in Bd VIII der *Speciellen Pathol. und Therapie* von H. Nothnagel, Wien, 1901). Si cette donnée se vérifiait encore, la conséquence qui en sort deviendrait de plus en plus importante: l'organisme apparaît ainsi comme capable, sous l'influence de réactions qui se produisent dans l'immunisation lente, de modifier à la longue la constitution physico-chimique de quelques-uns de ses éléments (dans le cas dont il s'agit, des globules rouges); et des antigènes peuvent donner lieu non seulement à des modifications humorales, mais même à des changements de structure[3]. — Cette propriété doit être d'ailleurs assez limitée et ne s'étend pas aux éléments hautement différenciés; on verra plus loin, par exemple, que les cellules nerveuses des animaux immunisés n'acquièrent

1. Voy. par exemple P. Courmont, *Précis de Pathol. générale*, 2e édit., Paris, 1911, p. 911.

2. Voy. sur cette question les intéressantes observations de Martin Jacoby (*Beiträge zur chem. Physiol. und Pathol.*, 1904, VI, 113-131; cf. p. 126 et suiv.).

3. On pourra lire plus loin (p. 84) quelques considérations sur ce sujet.

aucune résistance spéciale. — Toujours est-il néanmoins qu'ici se décèle une condition de variation des individus ; et la différenciation réalisée tient à des modifications physiologiques de l'organisme, c'est-à-dire à des modifications de constitution vraiment essentielles. Ne serait-il pas très intéressant de rechercher si on n'arriverait pas à créer, par le même procédé appliqué à plusieurs générations successives, des races pourvues d'une résistance spécifique, c'est-à-dire des races en définitive nouvelles ?

La donnée de la nature humorale de l'immunisation a été corroborée dans la suite par les expériencss que j'ai faites sur l'action des ichtyotoxines (sérum d'anguille et sérum de torpille) portées directement sur le système nerveux central, par injection dans le liquide céphalo-rachidien. Ces injections étaient pratiquées comparativement sur des animaux immunisés et sur des animaux non immunisés contre l'un ou l'autre des deux sérums sus-mentionnés; or, les premiers ne manifestent pas plus de résistance que les témoins[1]. Il suit de là qu'il est des éléments anatomiques, au cours de l'immunisation, qui n'acquièrent point de résistance propre; ils ne résistent qu'autant que la toxine, avant de les atteindre, a été neutralisée par l'antitoxine présente dans le sang; mais s'ils sont atteints directement par la toxine, celle-ci ne passant pas par le milieu sanguin, ils ne présentent aucune résistance spéciale. J'ai fourni la contre-épreuve de cette donnée en injectant dans le liquide céphalo-rachidien des quantités variables de sérum antitoxique et en établissant que ces animaux sont alors protégés contre la dose mortelle de la toxine correspondante, injectée par la même voie. L'immunité des éléments anatomiques, des cellules nerveuses dans le cas particulier, pour une toxine, dépend donc bien de la neutralisation de ce corps par un anticorps spécifique.

Sous l'influence des remarquables travaux de Bordet et

1. Em. Roux et A. Borrel ont montré (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, XII, 225-239) que les lapins immunisés contre le tétanos sont rendus aussi facilement tétaniques que les lapins normaux à la suite de l'injection d'une dose minime de toxine tétanique dans le tissu même du cerveau.

d'Ehrlich, il a été très généralement admis que les hémolysines, celles qui se trouvent normalement dans les sérums aussi bien que celles qui se développent au cours de l'immunisation contre un sang étranger, sont formées de deux substances, l'une qui est thermolabile, l'*alexine* ou *complément*, l'autre qui est thermostabile, la *sensibilisatrice* ou *fixateur* (*ambocepteur* d'Ehrlich). Ce sont là des hémolysines qu'on peut qualifier de *complexes* ou *indirectes*. Mais à côté de celles-ci il en est de *simples*, qui agissent *directement*[1] ; tel est, avons-nous toujours pensé, L. Camus et moi, le sérum d'anguille. Hans Sachs range dans cette catégorie les poisons des crapauds et ceux des araignées ; il y faut placer aussi l'hémolysine du sérum de grenouille, d'après les intéressantes recherches de E. Friedberger et A. Seelig (*Centralbl. f. Bakter.*, 1908, Bd XLVI, p. 421-433). On a donc eu tort de confondre en une seule classe toutes les hémolysines.

1. Hans Sachs (in *Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung*, t. I, p. 248, Iéna, 1908) professe la même opinion : « Die tierischen Hämotoxine,... können in zwei Gruppen eingeteilt werden, für deren Differenzierung die Frage massgebend ist, ob es sich dem gegenwärtigen Stande der Wissenschaft entsprechend um einfache oder um komplexe, d. h. durch der Synergie zweier Komponenten wirkende Hämotoxine handelt. »

II

DE LA TOXICITÉ DU SÉRUM D'ANGUILLE POUR DES ANIMAUX D'ESPÈCE DIFFÉRENTE (LAPIN, COBAYE, HÉRISSON) *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Toutes les expériences dont il est question dans cette note ont été faites avec une dilution de sérum d'anguille au dixième dans l'eau salée (8 p. 1.000 de chlorure de sodium). Cette solution a toujours été injectée dans une veine, veine marginale de l'oreille pour les lapins, veine jugulaire pour les cobayes et les hérissons. Le sang d'anguille était recueilli aseptiquement au moyen d'une canule en verre introduite dans l'aorte, près du cœur; on en obtient ainsi beaucoup plus que par le procédé grossier ordinairement employé et consistant à couper la tête de l'animal et à recueillir le sang qui dégoutte de la plaie. Nous soumettions le sang pendant douze à seize heures à l'action de la force centrifuge. Le sérum qui se sépare est toujours très clair et souvent dichroïque. Il nous a semblé que celui qui est légèrement verdâtre ou bleuâtre est plus toxique que l'incolore. Il ne faut pas croire, en effet, que toutes les anguilles fournissent indistinctement un sérum également toxique.

Nous avons trouvé que le hérisson possède vis-à-vis de ce poison, extrêmement violent, comme on le sait depuis les expériences de A. Mosso[1], une immunité naturelle, tout à fait ana-

* *C. R. de la Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, t. L, p. 129.
1. A. Mosso, *Arch. ital. de Biol.*, t. X, page 141.

logue à celle qu'il possède vis-à-vis du venin de vipère, comme l'ont montré les expérience de Milne-Edwards et Vaillant, et surtout celles de Phisalix et Bertrand[1]. Ainsi, un hérisson de 540 grammes a résisté à une dose de 9/10 de centimètre cube; il n'est mort que plusieurs heures après l'injection; pour un autre du poids de 585 grammes, la dose mortelle a été de 1 c. c. 1. Au contraire, des cobayes de même poids à peu près sont tués en quelques minutes par des doses de quelques centièmes de centimètre cube. Des cobayes de 500 à 600 grammes sont tués en cinq minutes par 0 c. c. 05; des cobayes de 400 grammes en vingt minutes par 0 c. c. 05. La dose toxique pour le hérisson est donc au moins vingt à trente fois plus forte.

Les analogies sont telles entre les venins et le sérum d'anguille que nous avons cherché à immuniser les cobayes contre le sérum d'anguille en leur injectant du sérum de hérisson. Nous n'avons pas réussi par la méthode des injections répétées de faibles doses. Au contraire, en employant un des procédés dont Phisalix et Bertrand[2] se sont servis pour immuniser le cobaye contre le venin de vipère, c'est-à-dire en injectant dans le péritoine 8 ou 10 c. c. de sérum de hérisson préalablement chauffé à 58° pendant un quart d'heure, nous avons immunisé le cobaye contre le sérum d'anguille.

La toxicité du sérum d'anguille pour le lapin est bien connue. Mais nous avons observé chez cet animal, comme d'ailleurs aussi chez le cobaye, une forme d'intoxication différente de celle que l'on a décrite. Ce sont les accidents qui surviennent quand on a injecté une faible dose. Au bout de quelques heures, il se produit des phénomènes paralytiques (paralysie d'abord du train postérieur) qui vont s'aggravant progressivement; quand on touche l'animal, il est pris de secousses fibrillaires dans tous les muscles, quelquefois très fortes; souvent, par moments, il présente spontanément ces mêmes secousses convulsives; la température s'abaisse et le poids de l'animal diminue considérablement. La

1. Voy. Phisalix et Bertrand, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1895, p. 639, et *Bull. du Muséum d'Hist. natur.*, 26 novembre 1895, p. 294.
2. Phisalix et Bertrand, *Loc. cit.*,

mort arrivait en un laps de temps de un à trois jours. Il faut donc distinguer, à côté de la forme connue d'intoxication, caractérisée surtout par des phénomènes convulsifs violents (mouvements cloniques), par la dyspnée et l'arrêt respiratoire, cette forme où dominent les troubles paralytiques.

Dans une autre série de recherches, nous avons étudié d'une façon détaillée l'action destructive très intense que le sérum d'anguille exerce sur les globules rouges du sang de lapin et de cobaye, constaté que les globules rouges du sang de hérisson possèdent une extrême résistance à cette action et immunisé des lapins contre la même action. On trouvera ces faits dans les *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, séance du 31 janvier 1898.

III

DE L'ACTION DESTRUCTIVE D'UN SÉRUM SANGUIN SUR LES GLOBULES ROUGES D'UNE AUTRE ESPÈCE ANIMALE. IMMUNISATION CONTRE CETTE ACTION *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Des expériences déjà anciennes de A. Mosso[1] ont montré que le sérum du sang d'anguille est extrêmement toxique pour un grand nombre d'animaux.

Au cours de recherches sur la toxicité de ce sérum[2], nous avons observé un phénomène nouveau : quand on injecte dans une veine d'un lapin de 1.800 grammes environ deux ou trois dixièmes de c. c. de ce liquide ou deux ou trois centièmes de c. c. dans une veine d'un cobaye de 400 grammes environ, il se produit très rapidement de l'injection irienne, une hémorragie nasale et de l'hémoglobinurie; on trouve dans l'urine de ces animaux des cylindres granuleux en quantité; si l'on recueille du sang artériel et qu'on le soumette à l'action de la force centrifuge, le sérum présente une coloration rouge des plus intenses, due à la grande quantité d'hémoglobine dissoute.

Le sérum d'anguille détruit donc *in vivo* les globules rouges[3].

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, t. CXXVI, p. 428.

1. A. Mosso, *Arch. ital. de Biol.*, t. X, p. 141.
2. L. Camus et E. Gley, *Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898.
3. On sait depuis longtemps déjà que le sérum du sang d'une espèce animale détruit les globules du sang d'une autre espèce; on a quelquefois qualifié cette action de *globulicide*.

Pour déterminer l'intensité de cette action globulicide, nous avons employé la méthode d'Hamburger (variation de la résistance des globules rouges dans des solutions de sel marin à des titres divers; on apprécie cette résistance par ce fait que les globules laissent diffuser leur matière colorante plus ou moins facilement), en nous servant du procédé de A. Mosso [1].

Soit une série de lapins de la même race et de la même portée, vivant dans les mêmes conditions; on leur prend un peu de sang artériel dont on fait tomber une goutte dans des quantités égales d'une solution de sel marin à des titres divers, depuis 0 gr. 48 p. 100 jusqu'à 0 gr. 66; à partir de la solution à 0 gr. 52, il n'y a plus de diffusion de l'hémoglobine; c'était donc là pour ces animaux la solution isotonique [2] au plasma sanguin, selon l'expression usitée; et c'est là en tout cas un moyen simple et commode d'apprécier la résistance globulaire. Or, nous avons vu que, si, dans ces solutions de chlorure de sodium, on introduit, avant d'y faire tomber la goutte de sang, une goutte de sérum d'anguille dilué de telle sorte que, dans les solutions employées de sel marin, cette dilution soit à des titres variant de 1/100 de c. c. à 1/15.000 de c. c., la résistance des globules diminue à un tel point que l'hémoglobine diffuse encore dans des solutions hyperisotoniques (0,70 de NaCl p. 100). L'action globulicide du sérum d'anguille est donc d'une intensité telle qu'il n'en a jamais été, croyons-nous, constaté de semblable [3].

Il n'en va pas ainsi chez tous les animaux. Nous avons éprouvé par la même méthode la résistance des globules de plusieurs hérissons; normalement, cette résistance variait entre 0,60 et 0,66 : elle était donc notablement plus faible que celle des lapins dont il a été question ci-dessus; mais, par contre, elle est très grande vis-à-vis du sérum d'anguille : dans une solution de sel marin à 0,68 p. 100 et à 1/50 de c. c. de sérum d'anguille, celui-ci n'amène pas de diffusion de l'hémoglobine. C'est là un phénomène spécifique, d'autant plus remarquable que la

1. Voir A. Mosso, *Rendiconti dell'Accademia dei Lincei*, 1887, et G. Viola, *Gazz. degli Ospitali*, 1894, n° 12.

2. Ces animaux avaient donc une résistance globulaire élevée; celle-ci correspond en général chez le lapin à des solutions de chlorure à 0 gr. 58-0 gr. 60.

3. Nous cherchons actuellement s'il est possible de séparer cette action globulicide de l'action toxique générale du sérum d'anguille.

résistance normale des globules du hérisson est relativement faible, et qu'il convient de rapprocher d'un autre fait, que nous avons également découvert, à savoir que le sérum d'anguille est beaucoup moins toxique pour le hérisson que pour le cobaye, ou le lapin ou le chien[1].

Il importait de savoir si cette résistance des globules du Hérisson tient à une propriété des globules eux-mêmes ou à quelque substance du plasma sanguin qui agirait comme antagoniste du sérum d'anguille. Pour juger cette question, nous avons ajouté, dans tous nos tubes contenant des dilutions de ce sérum, une goutte de sérum sanguin de hérisson; puis nous avons fait tomber la goutte de sang de lapin; la résistance de ce sang s'est trouvée diminuée comme d'habitude. Mais il faut remarquer que, dans des tubes témoins (c'est-à-dire ne contenant que du sérum de hérisson), il y a sortie de l'hémoglobine des globules dans des solutions hyperisotoniques. C'est naturellement que, comme tout sérum étranger, celui du hérisson est globulicide pour le sang de lapin. Cette expérience ne pouvait donc trancher la question[2].

Nous croyons avoir résolu le problème par une autre expérience.

Nous avons immunisé des lapins contre le sérum d'anguille par des injections intra-veineuses de petites doses de ce liquide, à deux ou trois jours d'intervalle, pendant une période de huit jours environ. Or, les globules du sang de ces animaux se sont comportés comme ceux du sang de hérisson vis-à-vis du sérum d'anguille; ils avaient donc acquis une résistance spécifique extraordinaire. Et ainsi la question se posait de nouveau : le phénomène tient-il à une propriété des globules ou du plasma? La question est tranchée par l'expérience suivante : dans nos tubes nous mélangeons une goutte de sérum d'anguille à une dilution très efficace et une goutte de sérum de lapin immunisé; l'action globulicide du sérum d'anguille ne se manifeste plus. Par une série de tubes témoins, on constate en même temps que

1. L. Camus et E. Gley, *Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898.
2. Il est possible pourtant que le sérum normal de hérisson possède une action antagoniste de l'action globulicide du sérum d'anguille, mais on ne peut le constater par de telles expériences.

le sérum d'animal immunisé augmente légèrement la résistance normale des globules.

Le sérum des animaux immunisés a donc acquis, par le fait de l'immunisation, une propriété qu'il ne possédait pas. Et ainsi cette expérience très simple fournit la preuve directe, *in vitro*, de la présence d'une antitoxine dans le sang d'animaux immunisés [1].

Ces expériences montrent aussi, croyons-nous, qu'à côté des données purement physiques que met en jeu la méthode de Hamburger et des notions qu'on a pu tirer de son application, il importe d'accorder une très grande part aux actions d'ordre chimique dont l'importance même apparaît grâce à l'emploi de cette méthode. Dans nos expériences, en effet, ce sont des quantités évidemment infinitésimales de matière, et en elles-mêmes et par rapport au volume des solutions isotoniques, qui suffisent à modifier très profondément le globule, et des quantités aussi faibles d'une autre matière qui suffisent à empêcher la première de produire cette altération [2].

Un certain nombre de faits rapprochant l'action du sérum d'anguille de celle des venins et des toxines microbiennes, nous avons été naturellement amenés à entreprendre avec quelques-unes de ces substances des recherches analogues à celles qui viennent d'être rapportées. Cette étude est en voie d'exécution.

1. Les expériences de C. Phisalix et G. Bertrand (*Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VI, p. 611; 1894) et de J. Héricourt et Ch. Richet (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 janvier 1897, p. 74) ont montré que le sérum du sang d'un animal immunisé contre le venin de vipère ou contre le sérum d'anguille, injecté à un autre animal, protège celui-ci contre l'action de ces substances toxiques.

2. A moins qu'il ne s'agisse ici simplement d'une neutralisation chimique du sérum toxique par l'antitoxine.

IV

SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNISATION CONTRE L'ACTION GLOBULICIDE DU SÉRUM D'ANGUILLE *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Nous avons montré précédemment (*Comptes rendus*, t. CXXVI, p. 428; 31 janvier 1898) quelle est la puissance de l'action destructive du sérum d'anguille sur les globules rouges du sang de diverses espèces animales, et que cette action est empêchée par une goutte de sérum sanguin d'un animal préalablement immunisé contre l'ichtyotoxique.

Cette dernière expérience, outre qu'elle démontre d'une manière très simple la présence d'une antitoxine dans le sang d'animaux immunisés, nous a paru posséder encore l'avantage de poser en termes clairs le problème de l'immunité, du moins en ce qui concerne un de ses côtés actuellement les plus importants.

On est naturellement conduit, en effet, à se demander comment agit, dans notre expérience, le sérum de l'animal immunisé, pour empêcher *in vitro* la diffusion de l'hémoglobine des globules mis en contact avec une quantité donnée de sérum d'anguille. L'antitoxine se combine-t-elle directement avec la substance globulicide, de manière à la neutraliser? Ce serait là un phénomène chimique, analogue à celui qu'Ehrlich admet

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 8 août 1898, t. CXXVII, p. 330.

pour expliquer la suppression de l'action coagulante de la ricine par le sérum d'animaux immunisés contre cette toxine végétale[1]. Ou bien est-ce la résistance de l'élément anatomique sur lequel agit le poison qui est augmentée par l'antitoxine? Le phénomène serait alors d'ordre histo-physiologique, plus ou moins analogue par exemple à l'action antisécrétoire de l'atropine, antagoniste de l'action sécrétoire de la pilocarpine.

Observons d'abord que les globules rouges du hérisson possèdent une résistance considérable à l'action destructive du sérum d'anguille, et que cependant le sérum de cet animal ne contient pas d'antitoxine.

En effet, nous avons vu que, si la substance toxique dont nous étudions l'action (la substance globulicide du sérum) perd tout son pouvoir, quand on la chauffe à 58° pendant 15 à 20 min., au contraire, la substance antitoxique qui existe dans le sérum des animaux immunisés n'est nullement altérée par ce chauffage; chauffons donc du sérum normal de hérisson, animal naturellement réfractaire au sérum d'anguille; ce sérum chauffé n'est en aucune façon susceptible de s'opposer à l'effet de l'ichtyotoxique sur les globules rouges du lapin ou du cobaye. Ce n'est donc pas grâce à la présence dans leur sang d'une antitoxine pouvant neutraliser chimiquement la toxine introduite que les hérissons sont pourvus d'une immunité naturelle contre le sérum d'anguille; mais leurs globules possèdent une résistance spécifique. Ajoutons que le sérum d'anguille chauffé ne manifeste non plus aucune propriété antiglobulicide. Ce ne peut donc être qu'en vertu de leurs propriétés physiologiques que les globules rouges de cet animal résistent à l'action si énergique de la substance globulicide qui se trouve dans son propre sang.

Il serait intéressant de rapprocher ces faits de la série de ceux qui ont montré que le sang d'animaux pourvus de l'immunité naturelle contre telle ou telle infection microbienne ne possède point de propriétés bactéricides.

Voilà donc un mode d'immunité parfaitement défini, que l'on

1. P. Ehrlich : Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung (*Fortschritte der Medic.*, 15 janvier 1897, p. 41).

pourrait appeler *cytologique*; il ne concerne pourtant que l'immunité naturelle. Les choses, en effet, paraissent se passer autrement dans le cas d'immunité acquise. Voici une expérience qui le prouve.

Sur un animal immunisé[1] (Lapin), on pratique une saignée. Le sang artériel est reçu dans de l'oxalate neutre de potasse, pour empêcher la coagulation, puis mis à centrifuger. Après seize heures, on décante le plasma; d'autre part, la bouillie globulaire est diluée dans une quantité équivalente d'une solution de chlorure de sodium à 0 gr. 66 p. 100 (dans laquelle les globules de Lapin ne laissent pas diffuser normalement leur hémoglobine). Toutes ces opérations doivent être réalisées aseptiquement. Comment vont se comporter ces globules et ce plasma vis-à-vis du sérum d'anguille? Or, les globules ne résistent pas plus à l'action destructive de ce sérum que les globules d'un animal témoin (non immunisé). Au contraire, le plasma contient la même substance antiglobulicide[2] que nous retrouvons dans le sérum, quand on n'empêche pas la coagulation du sang.

Ainsi les globules d'animal immunisé n'ont acquis aucune propriété spécifique de la part de l'antitoxine qui circule cependant avec eux dans le sang, de la part de la substance spécifique qui les baigne. Si donc ils résistent à l'action de la toxine (substance globulicide du sérum d'anguille), quand ils y sont soumis, ce ne peut être que parce que l'antitoxine empêche cette action

1. Cet animal est immunisé par des injections répétées de sérum d'anguille chauffé. Nous avons, en effet, reconnu que le sérum chauffé, qui a perdu tout pouvoir globulicide, est susceptible néanmoins d'immuniser contre cette action globulicide. Cette constatation offre un intérêt théorique réel, puisqu'elle fournit une preuve très simple, facile à donner *in vitro*, de ce fait qu'une antitoxine peut être produite dans l'organisme sans que celui-ci ait reçu la toxine spécifique correspondante; en d'autres termes, dans cette condition, il peut y avoir réalisation de l'état d'immunité active.

Nous nous occupons d'immuniser aussi des animaux par la toxine elle-même, comme d'ailleurs nous l'avons déjà fait (*loc. cit.*), pour l'étude d'un point qui nous semble très important : la question est de savoir si, à un moment donné, à une phase plus avancée de l'immunisation, il n'y aurait pas, outre la formation de substance antitoxique, modification des propriétés essentielles de divers éléments cellulaires (dans le cas dont il s'agit, augmentation de la résistance des globules rouges) : le processus aboutirait à une constitution des éléments anatomiques considérés analogue à celle que présentent les mêmes cellules chez les animaux pourvus de l'immunité naturelle. Une expérience de H. Kossel (*Berl. klin. Woch.*, 14 février 1898) dépose déjà en faveur de cette supposition.

2. Dans ces expériences, il est vrai, le plasma contenait une moindre quantité d'antitoxine que le sérum des animaux immunisés par de petites doses croissantes de la toxine elle-même.

de s'exercer. Il semble bien, par suite, que le phénomène ne puisse s'expliquer que par l'action des deux substances l'une sur l'autre, par la neutralisation chimique de la toxine par l'antitoxine[1].

C'est là un second mode d'immunité tout à fait différent du premier, immunité d'ordre chimique, tenant à l'action chimique réciproque de deux substances. Que l'on remarque enfin qu'il s'agit ici d'une immunité acquise. Celle-ci, dans le cas tout au moins du sérum d'anguille, pourrait dépendre conséquemment d'un tout autre mécanisme que l'immunité naturelle[2].

1. On pourrait cependant encore supposer que les propriétés des globules rouges ne se trouvent modifiées qu'autant et tant qu'ils sont en contact avec l'antitoxine; à la vérité, contre cette hypothèse parlent les expériences qui établissent qu'il y a proportionnalité simple entre les quantités d'antitoxine et de toxine qui se neutralisent.

2. Dans un mémoire détaillé sur l'action du sérum d'anguille, qui paraîtra prochainement dans les *Archives internationales de Pharmacodynamie*, on trouvera traitées quelques autres questions que nous avions posées dans notre première note.

V

RECHERCHES SUR L'ACTION PHYSIOLOGIQUE DU SÉRUM D'ANGUILLE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ NATURELLE ET ACQUISE *

Par

L. CAMUS, et **E. GLEY,**

hef adjoint des travaux pratiques de physiologie — Professeur agrégé de physiologie

à la Faculté de Médecine de Paris.

I. — Historique.

C'est A. Mosso qui a découvert le fait si intéressant de la toxicité du sérum d'anguille[1]. Il a montré les effets généraux qui sont consécutifs aux injections sous-cutanées ou intra-veineuses de ce sérum sur des animaux divers, grenouille, pigeon, cobaye, lapin et surtout chien; à ce point de vue, il distingue les cas où les animaux meurent avec de fortes convulsions et ceux où ils présentent des accidents paralytiques ; mais il n'a pas recherché la cause de cette différence. Quant à la dose mortelle, elle est de 0,1 c. c. à 0,2 c.c. par kilogramme pour le lapin et 0,2 c. c. à 0,3 c. c. pour le chien en injection intra-veineuse, cette dose amène la mort en quelques minutes; si on emploie 0,4 c. c. ou un peu plus par kilogramme chez le chien, et que l'on pratique la respiration artificielle, la mort n'en survient

* *Arch. internat. de pharmacodynamie et de thérapie*, 1898, t. V, p. 247-305.

1. A. Mosso : Un venin dans le sang des Murénides. *Arch. ital. de Biol.*, t. X, p. 141-169, 1888.

pas moins et aussi rapidement. — Introduit dans l'estomac, le sérum d'anguille n'est pas toxique.

D'autre part, A. Mosso a étudié, d'une façon plus ou moins détaillée, plusieurs des troubles fonctionnels qui se produisent dans ces cas, troubles de la respiration, du cœur et de la circulation, du système nerveux. La respiration s'accélère d'abord, puis s'arrête; cet arrêt serait d'origine centrale ; la mort se produit donc par arrêt respiratoire; mais quand la dose est forte, le cœur cesse de battre en même temps que cessent les mouvements respiratoires. En ce qui concerne le cœur, tout se passe comme s'il y avait d'abord excitation des nerfs modérateurs, puis paralysie ; à un ralentissement du cœur succède en effet une accélération ; mais il doit y avoir en outre une action locale sur le cœur; cependant, le poison serait à peu près sans action sur le cœur de la grenouille; sur ce point, il est vrai, Mosso dit n'avoir fait que peu d'expériences. La pression sanguine intra-artérielle s'élève presque tout de suite après l'injection; ce phénomène paraît tenir aux convulsions qui se produisent à ce moment, quand on injecte une forte dose; puis la pression s'abaisse. Le système nerveux est profondément atteint; l'excitabilité des nerfs moteurs, chez la grenouille, est très diminuée ; il en est de même de l'excitabilité propre des muscles; ces faits, à la vérité, n'ont pas été constatés avec le sérum de toutes les anguilles. Chez les animaux supérieurs, les accidents convulsifs ou paralytiques qui ne manquent jamais montrent bien l'action du poison sur le système nerveux.

Mosso a enfin très bien vu un autre fait fort intéressant, c'est que le sang des animaux intoxiqués devient incoagulable ; il s'était promis de l'étudier, mais il n'a pas, que nous sachions, réalisé ce projet. On sait combien dans ces dernières années s'est développée la question de l'action des substances anticoagulantes. Le fait découvert par Mosso a été soumis à une analyse soignée par Delezenne[1]. Cet expérimentateur a montré, entre autres choses, que le sérum d'anguille agit à la façon de

1. C. Delezenne : Action du sérum d'anguille et des extraits d'organes sur la coagulation du sang. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. IX, p. 646-660, 1897.

la propeptone[1], en déterminant une réaction du foie qui aboutit à la formation dans cet organe d'une substance anticoagulante.

Telles sont les principales propriétés physiologiques connues du sérum d'anguille[2].

Que sait-on de la substance à laquelle il doit ces propriétés? A. Mosso a déjà fait à ce sujet quelques constatations intéressantes : ce sérum, chauffé à 100°, perd sa saveur âcre et en même temps sa toxicité ; desséché dans le vide et redissous ensuite, il a conservé sa saveur et son pouvoir toxique ; le poison qu'il renferme ne se dissout pas dans l'alcool à 95°.

Ces brèves indications chimiques ont été développées par Ugolino Mosso[3]. Ce dernier a constaté que le sérum d'anguille a toujours une réaction alcaline ; que sa densité varie entre 1,021 et 1,026 ; qu'il contient 7,20 à 7,43 p. 100 de matières solides et que là-dessus il y a 0,603 p. 100 de chlorure de sodium ; que la température de 70° détruit l'ichtyotoxique (ce mot a été créé par A. Mosso); que les acides minéraux et organiques le détruisent aussi, et qu'il en est de même des alcalis, soude, potasse ou ammoniaque ; si, après action de l'un quelconque de ces corps, on neutralise par un acide, le sérum ne récupère pas son activité ; les sels neutres sont au contraire sans effet. D'autre part, la substance toxique ne dialyse pas. La digestion pepsique

1. Ch. Contejean : Nouvelles recherches sur l'influence des injections intravasculaires de peptone sur la coagulabilité du sang chez le chien. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VII, p. 245-251, 1895. — E. Gley et V. Pachon : Du rôle du foie dans l'action anticoagulante de la peptone. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 26 août 1895, p. 383; Influence des variations de la circulation lymphatique intrahépatique sur l'action anticoagulante de la peptone. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VII, p. 711-718, 1895 ; Influence de l'exirpation du foie sur l'action anticoagulante des injections intraveineuses de propeptone. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VIII, p. 715-723, 1896. — C. Delezenne : Formation d'une substance anticoagulante par circulation artificielle de peptone à travers le foie. *Arch. de Physiol.*, 5e série, VIII, p. 655-668, 1896. — E. Hédon et C. Delezenne : Effets des injections intra-veineuses de peptone après l'extirpation du foie combinée à la fistule d'Eck. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 20 juin 1896, p. 633. — E. Gley : A propos de l'effet de la ligature des lymphatiques du foie sur l'action anticoagulante de la propeptone. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juin 1896, p. 663; De l'action anticoagulante et lymphagogue des injections intra-veineuses de propeptone après l'extirpation des intestins. *Ibidem*, 12 décembre 1896, p. 1053.

2. Dans ces dernières années, il a paru plusieurs travaux sur l'immunisation contre les effets toxiques du sérum d'anguille. Nous en parlerons plus loin.

3. U. Mosso : Recherches sur la nature du venin qui se trouve dans le sang de l'anguille. *Arch. ital. de Biol.*, t. XII, p. 229-236, 1889.

et la putréfaction la détruisent. Enfin, de quelques autres essais U. Mosso conclut que l'ichtyotoxique n'est pas un ferment, mais une matière albuminoïde, et sans doute une sérine.

C'est à un point de vue tout spécial que nous avions d'abord repris l'étude du sérum d'anguille. Au cours de recherches sur les variations que font subir à l'activité des ferments solubles diverses influences physiques et chimiques[1], il nous avait semblé que le sérum d'anguille subissait également quelques-unes de ces influences. Ces faits nous obligèrent à déterminer exactement la toxicité de ce sérum, injecté dans les veines, et les principaux phénomènes que l'on observe à la suite de ces injections; ces expériences, à leur tour, nous ont révélé l'action globulicide si intense de ce sérum[2]; nous fûmes alors conduits à aborder l'étude du problème de l'immunité par un côté très particulier, par l'étude de l'immunité soit naturelle, soit acquise contre cette action si spéciale. — On trouvera dans les pages qui vont suivre l'exposé de toutes ces recherches.

II. — Technique expérimentale.

Il ne sera sans doute pas inutile, avant d'entrer en matière, de donner quelques indications d'ordre technique sur nos expériences.

Nous avons toujours recueilli le sérum d'anguille de la même façon ; une canule en verre, préalablement stérilisée, est introduite dans l'aorte d'une anguille et on reçoit le sang dans de petits tubes de verre stérilisés; par ce mode de faire, on obtient

1. Nous avons publié quelques-unes de ces recherches. Voyez L. Camus et E. Gley : Persistance d'activité de la présure à des températures basses ou élevées. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 26 juillet 1897, p. 256; Action du sérum sanguin et des solutions de propeptone sur quelques ferments digestifs. *Arch. de Physiol.*, 5e série, IX, p. 764, 1897; Influence de la température et de la dilution sur l'activité de la présure. *Ibidem*, p. 810.

2. L. Camus et E. Gley : De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action *Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, p. 428.

plus de sang que par le procédé brutal, généralement employé, et qui consiste à sectionner la tête ou la queue de l'animal et à recueillir le sang s'écoulant de la blessure[1]. La quantité obtenue peut être encore plus grande si on a le soin, alors que l'artère ne fournit presque plus de sang, d'exercer tout le long du corps de l'anguille des pressions méthodiques, de l'extrémité inférieure vers la tête.

On peut laisser simplement les tubes pleins de sang à la température du laboratoire ; au bout de quelques heures, on a un sérum clair ; on peut aussi soumettre le sang à l'action de la force centrifuge, et l'on obtient ainsi une quantité un peu supérieure de sérum.

En opérant de cette façon, nous avons toujours eu d'assez grandes quantités de sérum clair, que nous avons conservé pendant longtemps à l'abri de la lumière sans qu'il perdît rien de son activité[2]. Voici un tableau qui montre les résultats de notre manière de faire :

ANGUILLES	POIDS	QUANTITÉ de sang recueilli par l'aorte	QUANTITÉ de sérum obtenu
—	—	—	—
N° 1	310 gr.	4,2 c.c.	1,8 c.c.
N° 2	322	5,4	3,1
N° 3	350	4,5	2,25
N° 4	395	6,7	4
N° 5	445	6,9	3,4
N° 6	500	7,2	4,45
N° 7	500	8,15	4,85
N° 8	523	7,4	3,9
N° 9	530	8,8	4,7
N° 10	540	7,7	3,4
N° 11	550	5,35	2,5
N° 12	600	8,9	4,1
N° 13	660	7,9	4,6
N° 14	1.050	16,6	9,2
N° 15	1.055	16	8
N° 16	1.250	14,8	6,4

1. J. Héricourt et Ch. Richet (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 janvier 1897, p. 74) ont indiqué comme étant la meilleure manière de se procurer du sang d'anguille le procédé qui consiste à introduire un pipette directement dans le cœur. Mais c'est un mode opératoire encore assez défectueux, surtout en ce qu'il fait toujours perdre un peu de sang.

2. C. Maglieri (Sull'azione tossica, immunizante e battericida del siero di anguilla. *Annali d'Igiene sperimentale,* N. S., t. VII, p. 191-214, 1897) prétend

Le sérum ainsi recueilli est la plupart du temps d'une belle coloration bleu verdâtre, quelquefois jaunâtre ; dans ce dernier cas, il nous a toujours paru moins toxique.

Nous nous sommes servis de ce sérum dilué au dixième dans l'eau salée bouillie (à 8 p. 1.000 de chlorure de sodium) en injection intra-veineuse. C'est, on le sait, par ce procédé seulement que l'on est absolument sûr d'employer les quantités que l'on veut de substance toxique et de les faire agir dans des conditions toujours identiques et dans le même laps de temps. — Dans quelques expériences d'immunisation pourtant, nous avons eu recours à l'injection intra-péritonéale ; nous aurons soin d'indiquer ces exceptions en temps et lieu.

Nous avons quelquefois employé du sérum conservé à l'état sec, après desséchement sous le vide et l'exsiccateur à acide sulfurique. La dilution de ce sérum s'est montrée aussi active que le sérum en nature.

Les animaux utilisés ont été le lapin, le cobaye et le hérisson (*Erinaceus europœus*). Sur le lapin, les injections étaient faites dans une veine marginale de l'oreille ; sur le cobaye et le hérisson, dans une veine jugulaire.

PREMIÈRE PARTIE

I. — Action toxique générale du sérum d'anguille. Distinction de deux formes d'intoxication.

Toutes nos observations concernant la toxicité du sérum d'anguille sont faites sous la réserve que l'on rencontre quelquefois des animaux qui résistent plus que d'autres à l'action de ce poison.

que la toxicité du sérum d'anguille va en s'atténuant à partir du 8e jour qui suit son prélèvement, même s'il a été recueilli aseptiquement et s'il est conservé dans un lieu frais et obscur. Nos expériences ne nous permettent pas de confirmer ce fait. [Sur la même question, voy. p. 216.]

1° Description des deux formes d'intoxication.

Quand la dose de sérum injecté est assez forte, elle amène rapidement la mort en quelques minutes, avec prédominance, chez le lapin comme chez le cobaye, d'accidents convulsifs. Mais quand la dose est plus faible, ou bien encore, ce qui revient au même, quand le sérum employé est naturellement peu toxique [1], il se développe, au lieu d'accidents convulsifs, des phénomènes paralytiques, et la mort n'arrive que plus tardivement.

Nous réunissons dans les deux tableaux suivants des exemples de ces deux sortes d'intoxications [2].

Expériences sur les lapins. — Les cas relatés dans le tableau ci-dessous concernent des animaux morts rapidement avec des accidents surtout convulsifs, tels que mouvements brusques et violents de propulsion, convulsions cloniques, et avec des troubles soudains de la respiration (dyspnée, arrêt des mouvements respiratoires).

Dans le tableau II, nous plaçons les lapins dont la mort a été plus tardive, et chez lesquels ont prédominé les accidents paralytiques, soit que la dose injectée ait été plus faible, soit que le sérum employé ait été naturellement moins toxique; dans quelques-uns de ces cas cependant, on voit survenir, mais assez longtemps après l'injection, des phénomènes d'excitation neuro-musculaire, caractérisés par des secousses fibrillaires dans diffé-

1. Il y a des différences de toxicité entre les sérums provenant des diverses anguilles. Récemment, Wehrmann (Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, t. XI, p. 810, 1897) a encore attiré l'attention sur ce fait. « Le sérum d'anguille, dit-il, recueilli à diverses époques de l'année, ou bien d'anguilles de différentes provenances, n'a pas la même valeur toxique. Chaque fois que l'on fait une nouvelle provision de sérum, il faut déterminer sa toxicité » (p. 815).

2. Nous avons indiqué déjà cette distinction dans une note préliminaire (L. Camus et E. Gley : De la toxicité du sérum d'anguille pour les animaux d'espèce différente, Lapin, Cobaye, Hérisson. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, p. 129). Dans la même séance de la Société de Biologie, p. 137, Héricourt et Richet ont signalé brièvement ce fait, que les chiens qui ont reçu plusieurs injections de sérum d'anguille finissent par dépérir et mourir cachectiques. De son côté, H. Kossel (*Berl. klin. Woch.*, 14 février 1898), dit que l'injection d'une dose d'ichtyotoxique qui n'amène pas la mort rapidement, produit un empoisonnement chronique; au bout de quelques jours, les animaux ont subi une forte perte de poids, ils sont parésiés et finissent par mourir.

Tableau I.

LAPINS	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
1	1030 ♀	0,2	Agitation, myosis, convulsions.	7 minutes.	
2	1570 ♂	0,32	Convulsions tardives.	25-30 min.	Sérum peu toxique, à très faible action globulicide, sans action myotique.
3	1590 ♀	0,4	Convulsions violentes.	3-4 minutes.	Même sérum que le n° 2, mais l'animal, de même poids, reçoit 0,08 c.c. de plus.
4	1685 ♀	0,7	Contractions générales, opisthotonos, myosis, salivation, hématurie.	3-4 minutes.	Sérum peu toxique, globulicide cependant, n'amenant la mort que lentement (v. n° 3 du tableau II) avec la moitié de cette dose, alors que d'habitude le sérum tue en quelques minutes à la dose de 0,1 à 0,2 c.c. par kgr.
5	1830 ♀	0,2	Convulsions.	3 minutes.	
6	1860 ♀	0,2	Id.	4 minutes.	
7	1870 ♂	0,2	Id.	4 minutes.	
8	1880 ♂	0,2	Accidents habituels.	6 minutes.	L'animal avait reçu, 1/2 h. avant, 145 c.c. d'une solution hyperisotonique de chlorure de sodium (3 °/o NaCl).
9	1910 ♂	0,3	Id.	5 minutes.	
10	2120 ♀	0,2	Id.	2 min. 30 s.	Le sérum avait été mélangé avec 5 c.c. d'une solution à 3 °/o de chorure de sodium.
11	3290 ♀	0,3	Id.	3 minutes.	

Tableau II.

LAPINS	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
1	850 ♀	0,3	Agitation, myosis.	Plusieurs heures.	
2	920 ♀	0,15	Dyspnée, myosis, affaissement, hématurie.	10 h. envir.	
3	1250 ♂	0,2 d'abord, puis, 22 minutes après, même dose.	Myosis, paraplégie, anesthésie du train postérieur.	2 h. environ.	Sérum qui produit d'emblée des convulsions à dose double (voyez n° 4 du tableau I).

Tableau II (*suite*).

LAPINS	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
4	1450 ♀	0,4	Paraplégie, contractions fibrillaires, hématurie.	12 h. envir.	Même observation.
5	1590 ♀	0,1	Abattement.	11 heures.	A l'autopsie, sérosité sanguinolente dans le péritoine ; l'urine de la vessie contient de l'hémoglobine.
6	1660 ♂	0,15	Injection irienne, salivation, larmoiement, paraplégie.	plus de 1 h.	Myosis persistant après la mort. Foie et reins très congestionnés : sang dans le péritoine ; l'urine de la vessie contient de l'hémoglobine.
7	1940 ♂	0,2	Parésie, salivat., troubles respir.	43 minutes.	
8	2070 ♂	0,2, puis 43 m. après 0,05	Dyspnée, salivat., myosis, hématurie, parésie.	12 h. envir.	
9	2170 ♂	0,3	Affaissement. salivation, respirat. très ralentie, convuls. au moment de la mort.	1 h. 13 min.	
10	2260 ♂	0,1	Myosis, hémoglobinurie, paralys., dyspnée, mouvements convulsifs secondaires.	3 h. 10 min.	A l'autopsie, péritoine et vessie pleins de sang liquide ; reins congestionnés.

rents muscles et quelquefois même des secousses convulsives.

Expériences sur les cobayes. — Les tableaux III et IV sont analogues aux précédents.

Tableau III.

COBAYES	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
1	187 ♂	0,016	Troubles respiratoires, agitation.	9-10 min.	
2	217 ♀	0,02	Paralysie après agitation.	13 minutes.	
3	220	0,016	Cris, paraplégie, dyspnée.	12 minutes.	
4	220 ♀	0,01	Cris, agitation.	7 minutes.	

TABLEAU III (*suite*).

COBAYES	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
5	226 ♀	0,02		8 minutes.	
6	235 ♂	0,02		4 min. 30 s.	
7	240	0,016	Cris, chute, dyspnée.	6 minutes.	
8	240 ♂	0,01	Convuls., paralys.	21 minutes.	
9	254 ♂	0,016	Cris, dyspnée.	3 minutes.	
10	270 ♂	0,02		4 minutes.	
11	350 ♂	0,02	Convulsions.	7-8 minutes.	
12	350 ♂	0,025	Id.	13 minutes.	
13	375 ♀	0,065	Convuls., arrêt brusque de la respiration.	3 minutes.	
14	390 ♂	0,05	Convulsions.	3 min. 30 s.	
15	395 ♀	0,02	Agitation, puis paralysie.	20 minutes.	
16	400 ♀	0,03	Accid. convulsifs.	6 minutes.	
17	405 ♀	0,04	Convulsions, puis paraplégie.	7 min. 30 s.	
18	410 ♂	0,02	Cris, dyspnée, paralysie généralisée, salivation.	8 minutes.	
19	445 ♂	0,02	Convulsions, puis paralysie.	20 minutes.	
20	450 ♀	0,05	Agitation, convul	2 minutes.	
21	462 ♂	0,02	Convulsions.	4 minutes.	
22	475 ♀	0,08	Convulsions, arrêt de la respiration.	3 min. 30 s.	
23	540 ♀	0,01	Convulsions.	2 minutes.	
24	540 ♀	0,02	Paralysie presque immédiate.	6 minutes.	
25	575 ♀	0,05	Dyspnée, larmoiement, mouvements convuls.	6 minutes	
26	590 ♂	0,05	Convulsions, arrêt respiratoire.	2 minutes.	
27	590 ♂	0,1	Arrêt de la respir.	1 minute.	

TABLEAU IV.

COBAYES	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
1	232 ♂	0,015	Chute, cris, abattement.	23 heures.	Poids (au moment de la mort) = 190 gr.
2	256 ♂	0,016	Cris, paraplégie, secousses convulsives, puis rémission.	46 heures.	Poids (au moment de la mort) = 175 gr.

Tableau IV (*suite*).

COBAYES	POIDS en gr. et sexe	QUANTITÉ de sérum injecté en c.c.	ACCIDENTS	MORT en	OBSERVATIONS
3	257 ♀	0,01		3 jours et qq. heures.	
4	257 ♀	0,01	Tremblements.	36 h. envir.	
5	374 ♀	0,01	Accidents paralytiques, puis convulsifs par périodes, et secousses fibrillaires.	24 heures.	A l'autopsie, foie congestionné, bile dans le duodénum, vésicule bilaire très distendue.
6	400 ♀	0,02	Paralysie, dyspnée, convuls.	40 minutes.	
7	432 ♀	0,02	Abattement, salivation, contractures.	36 h. envir.	
8	440 ♀	0,02	Paralysie, puis convulsions.	40 minutes.	
9	480 ♀	0,02		36 h. envir.	
10	480 ♂	0,01	Tremblements fibrillaires et parésie.	14 jours.	
11	500 ♀	0,02	Paralysie, salivat., secousses musculaires.	36 heures.	
12	540 ♀	0,02	Tremblements fibrillaires, paralysie, salivation, convulsions secondaires.	24 h. 30 m.	Poids (au moment de la mort) = 305 gr.

Ainsi, d'une façon générale, à dose forte, 0,1 c. c. — 0,15 c. c. par kilogramme pour le lapin et 0,07 c. c. — 0,08 c. c. par kilogramme pour le cobaye, le sérum d'anguille détermine une excitation du système nerveux caractérisée par des phénomènes convulsifs, et l'animal meurt rapidement au milieu de ces convulsions ou dans une courte phase de paralysie généralisée avec arrêt respiratoire, précédant la mort du cœur, c'est-à-dire avec prédominance des accidents bulbaires. — Quand on dépasse cette dose, les accidents restent les mêmes (à cette réserve près que, chez le cobaye quelquefois, il y a suppression soudaine de toutes les activités nerveuses, chute brusque de l'animal et mort avant que les convulsions aient eu le temps de se produire), les phénomènes convulsifs ne sont pas plus intenses et la mort n'est très généralement pas plus rapide. Cela se conçoit aisément ;

dès que la dose mortelle est atteinte, l'augmentation de cette dose ne peut être d'aucun effet.

A dose plus faible, ou s'il s'agit d'un sérum moins toxique (il y a d'assez grandes variations de toxicité entre les sérums), ce sont les accidents paralytiques qui surviennent d'abord, après un peu d'agitation; l'animal peut rester dans cet état jusqu'à sa mort; mais d'autres fois il se produit secondairement des phénomènes convulsifs, secousses fibrillaires dans les masséters et dans d'autres muscles, rappelant de très près celles que l'on observe à la suite de la thyroïdectomie chez le lapin, ou même convulsions cloniques ou contractures, après lesquelles meurt l'animal. C'est au cours de cette intoxication plus lente que l'on voit souvent s'établir la salivation et le larmoiement. Ici encore se manifeste l'intoxication du bulbe, mais la moelle est fortement atteinte aussi. Dans cette forme lente, le poids diminue beaucoup et très rapidement, même quand l'animal peut s'alimenter. D'habitude, il est vrai, il ne mange pas; mais la perte de poids qui se produit, par exemple, en vingt-quatre heures, dépasse notablement celle qui se produirait par la simple inanition.

A l'autopsie, on trouve dans l'un et l'autre cas, mais plus marquées naturellement dans le second, des congestions viscérales diverses, des poumons, du foie, des reins, des capsules surrénales; la vésicule biliaire distendue, ce qui pourrait indiquer une augmentation de la sécrétion biliaire; la vessie contenant de l'urine sanguinolente, etc.; nous avons constaté dans ces urines la présence de nombreux cylindres granuleux et de globules rouges. Les altérations du parenchyme rénal, très graves, ont été spécialement étudiées sur quelques-uns de nos animaux par A. Pettit[1]. Même quand la mort est très rapide, se produisant en quelques minutes, Pettit a pu trouver ces lésions; dans un cas où l'animal (cobaye) n'avait survécu que 3 m. 1/2 à l'injection de sérum, les cellules des tubes contournés avaient subi la dégénérescence hyaline, le corps cellulaire avait sensiblement

1. A. Pettit : Altérations rénales consécutives à l'injection de sérum d'anguille. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 19 mars 1898, p. 320.

augmenté de volume et offrait un aspect clair anormal; quand l'animal survit quelques heures, les altérations sont très intenses; chez un lapin, par exemple, qui survit 3 heures à l'injection de 0,1 c. c. de sérum, les pièces ayant été, comme d'habitude, prélevées immédiatement après la mort, « il n'existe pas, pour ainsi dire, de tube contourné qui ne renferme des cellules claires; celles-ci se présentent comme des éléments hyalins dans leurs parties centrales et de dimension anormale; elles font saillie dans la lumière canaliculaire qu'elles obstruent complètement; la plupart ne possèdent d'ailleurs pas de limites distinctes. Du côté des tubes droits, on note également des altérations profondes : certains canalicules sont encore tapissés par un épithélium normal; mais dans un certain nombre de ceux-ci, les cellules épithéliales se continuent insensiblement avec une masse compacte, granuleuse, obstruant la lumière; dans d'autres tubes, la dégénérescence est encore plus accusée, et tout se réduit à un magma granuleux, remplissant la lumière canaliculaire et présentant à sa surface quelques noyaux altérés; on compte en moyenne un dixième de tubes ainsi remplis de cylindres » (A. Pettit, *loc. cit.*). L'auteur a soin d'attirer l'attention sur la rapidité extrême avec laquelle peuvent se produire ces altérations; ce fait concorde avec l'apparition souvent si rapide (quelques minutes), que nous avons notée, de l'hémoglobine dans les urines.

Dans le système nerveux, il doit se produire des altérations non moins importantes des éléments cellulaires. L'étude en a été récemment commencée par A. Westphal, d'après des préparations de la moelle (renflement cervical), faites suivant la méthode de Nissl, et provenant d'animaux ayant servi à des expériences de H. Kossel[1], dont il sera question plus loin; les résultats des observations de Westphal sont brièvement rapportés par Kossel; les modifications cellulaires constatées sont d'une façon générale analogues à celles que Goldscheider et Flatau ont décrites dans le tétanos.

1. H. Kossel : Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. *Berl. klin. Wochenschr.*, 14 février 1898.

2° Suppression de la toxicité du sérum d'anguille par le chauffage.

Ce sérum si toxique perd aisément cette propriété par le chauffage à 58° pendant un quart d'heure seulement[1]. Injectons-le, ainsi chauffé, à la dose habituellement mortelle; l'animal, cobaye ou lapin, ne présente aucun trouble; avec une dose double, il en est de même; avec une dose 10 fois et 50 fois plus forte, on n'observe que quelques accidents insignifiants (un peu de mâchonnement, quelques tremblements chez le cobaye); avec une dose 100 fois plus forte, il n'y a aussi que quelques accidents sans gravité : tremblements, légère accélération respiratoire. Cependant, à ces dernières doses, il se produit, dans les jours qui suivent l'injection, une forte diminution de poids, qui doit tenir, il est vrai, en partie au moins, à ce que les animaux, ainsi traités, mangent très peu[2]. Exemples :

Expérience I. — Cobaye ♂ de 235 gr., injection dans la veine jugulaire droite de 1 c. c.[3] de sérum d'anguille dilué dans 5 c. c. d'eau salée à 7 p. 1.000, et chauffé à 58° pendant 15 m. Tremblements, légère accélération respiratoire; poils hérissés. Les deux jours suivants, très bien portant; le surlendemain, le poids n'est que de 187 gr.; l'animal a donc perdu en deux jours 48 gr., soit 20,4 p. 100 de son poids.

1. Calmette (Contribution à l'étude des sérums, des toxines et des sérums antitoxiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. IX, p. 225-251, 1895) dit que le sang d'anguille, chauffé à 68° pendant 10 minutes, perd sa toxicité, et Phisalix (Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXIII, p. 1305, 28 décembre 1896), que le sérum de ce sang, chauffé à 58° pendant 15 minutes, n'est plus toxique, mais peut immuniser contre le venin de vipère.

2. Il est intéressant de rappeler que Phisalix et Bertrand ont remarqué que le venin de vipère chauffé à 75° durant 5 minutes, et qui a perdu par cela même sa toxicité, provoque souvent cependant chez le cobaye « des troubles de nutrition qui se traduisent par un amaigrissement notable » ; l'animal succombe même quelquefois à une cachexie lente (Phisalix et Bertrand : Recherches expérimentales sur le venin de la vipère. Atténuation par la chaleur et vaccination contre ce venin. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VI, p. 567-582, 1894).

3. *Expérience témoin* : un cobaye, pesant 254 gr., est tué en 3 minutes par une injection intra-veineuse de 0,016 c. c. du même sérum dilué dans 0,5 c. c. d'eau salée.

Expérience II. — Cobaye ♂, pesant 325 gr. Injection dans la veine jugulaire droite de 1 c. c. de sérum d'anguille chauffé à 58° pendant 15 m. Rien à noter.

Poids de l'animal, 23 heures après	......	298 grammes.
Poids — 45 —	......	284 —

La perte de poids en deux jours a été de 41 gr.

Le troisième jour, nouvelle injection, dans la veine jugulaire gauche, de 1,6 c. c. du même sérum, chauffé à 85° pendant 30 m.

Poids de l'animal, 41 heures après	......	277 grammes.
Poids — 3 jours après	....	254 —

Dans quelques rares cas cependant, nous avons vu le sérum chauffé donner lieu à des accidents immédiats, mais peu durables. Exemple :

Expérience III. — Cobaye ♂ de 234 gr. Injection en 1 m. 20 sec., dans la veine jugulaire droite, de 0,5 c. c. de sérum d'anguille (provenant d'un mélange de sérum de trois anguilles) chauffé à 58° pendant 15 m.; à la fin de l'injection, miction, cris, chute sur le flanc; 4 m. après, l'animal se relève; alors polypnée, dyspnée, tremblements, mâchonnement. Il paraît tout à fait remis 1 h. après.

3° Causes de la toxicité.

Quelle est la cause des phénomènes toxiques, à détermination essentiellement bulbaire et médullaire, que provoque le sérum d'anguille?

Nous ne connaissons pas encore le principe actif de ce liquide. Cependant les expériences dont il sera longuement question tout à l'heure, relatives à son action dissolvante sur les globules rouges du sang, nous ont forcés à nous demander si la substance globulicide qui y est contenue n'est pas aussi la substance toxique.

Plusieurs raisons nous ont paru plaider en faveur de cette

assimilation. En premier lieu, chez les animaux qui présentent naturellement une grande résistance à l'action toxique du sérum, comme le hérisson (voir la seconde partie de ce mémoire, p. 51), les globules rouges ne sont pas détruits. D'autre part, le sérum chauffé perd presque complètement son pouvoir toxique, comme nous l'avons vu, mais il perd du même coup tout pouvoir globulicide (voyez p. 42) ; c'est ainsi que, alors que 0,01 c. c. suffit souvent pour tuer rapidement un cobaye, 1 c. c. de sérum chauffé à 58° pendant 15 m. ne détermine pas d'accidents immédiats. Enfin, le sérum d'animaux immunisés, c'est-à-dire qui a acquis des propriétés antitoxiques vis-à-vis du sérum d'anguille, est en même temps fortement antiglobulicide.

Conclurons-nous que la toxicité est due uniquement à l'action globulicide ? Cette conclusion dépasserait sans doute l'expérience. Remarquons d'abord que le sérum chauffé détermine encore quelques légers troubles, à dose très forte, il est vrai. Mais ce qui est plus significatif, c'est que l'on peut rencontrer des sérums assez toxiques et qui pourtant ne possèdent qu'une très faible action globulicide. En voici un exemple :

Expérience IV. — Lapin albinos ♀ de 1.750 gr. Injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,32 c. c. de sérum, dilué dans 3 c. c. d'eau salée. Pas de myosis, pas de ralentissement du cœur, pas d'injection irienne; mort au bout de 25 à 30 m., avec des convulsions violentes.

Expérience V. — Lapin albinos ♀ de 1.590 gr. Injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,4 c. c. de sérum de la même anguille, dilué dans 1 c. c. d'eau salée. Pas de myosis, pas de ralentissement du cœur, pas d'injection irienne; convulsions violentes, mort en 3 ou 4 m.

Or, ce sérum, à peu près une fois moins toxique que ne l'est habituellement le sérum d'anguille, n'était presque pas globulicide; à 1/500, en effet, il ne produisait plus de diffusion de l'hémoglobine et à 1/100 il n'en produisait qu'une très légère; il fallait aller jusqu'à 1/50 pour obtenir une diffusion marquée; il était donc 100 fois moins globulicide que la plupart des sérums (fortement globulicides encore à la dilution 1/10000).

On voit donc qu'il peut y avoir des sérums assez toxiques encore, quoique peu globulicides. L'inverse, il est vrai, ne se constate pas, nous n'avons jamais eu de sérums normalement globulicides qui ne fussent extrêmement toxiques.

Ces faits suffisent néanmoins pour montrer que l'action toxique du sérum d'anguille peut être en quelque mesure, en faible mesure cependant, dissociée de l'action globulicide. Ce n'est même là peut-être qu'une apparence. Car si l'on se rappelle que les injections sous-cutanées de ce sérum amènent des abcès par nécrose[1], qu'elles produisent des altérations destructives des reins, comme on l'a vu plus haut, et sans doute aussi d'autres parenchymes glandulaires, qu'elles dissolvent les globules blancs[2] aussi bien que les globules rouges, on peut se demander si la toxicité de ce poison n'est pas liée à son action destructive, et qui paraît générale, sur les éléments anatomiques. De telle sorte que cette toxicité tiendrait, d'une part, à la mise en liberté, dans le milieu sanguin, de diverses substances (ferments ou autres) provenant de la dissolution d'une grande quantité de globules rouges et de globules blancs et sans doute aussi d'autres éléments cellulaires, et, d'autre part, très vraisemblablement, à la suppression brusque, par altération destructive de leur protoplasma, des fonctions de beaucoup de cellules nerveuses[3].

II. — Action physiologique du sérum d'anguille.

1° Action sur le sang.

Nous ne nous occuperons pas de l'action du sérum sur la coagulabilité du sang. Le fait de l'incoagulabilité, consécutif aux injections intra-veineuses de ce sérum, trouvé par A. Mosso, a été bien étudié par Delezenne (voyez p. 19).

1. Wehrmann (*loc. cit.*) a encore attiré récemment l'attention sur ce fait.
2. Des expériences récentes de C. Delezenne (Action leucolytique des agents anticoagulants du groupe de la peptone. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. X, p. 508-521, 1898) ont montré que le sérum d'anguille détruit les globules blancs.
3. Voir à ce sujet ce que nous disons plus haut (p. 30) des observations de Westphal.

1. Action globulicide du sérum d'anguille. — C'est d'une action non signalée jusqu'à présent que nous voulons parler. Nous avons en effet constaté que le sérum d'anguille possède une puissante action dissolvante sur les globules rouges.

On sait depuis longtemps déjà que le sérum du sang d'une espèce animale détruit les globules du sang d'une autre espèce, c'est-à-dire, suivant une expression communément employée, qu'il est globulicide pour ce dernier sang[1]. Or, nous avions observé que, à la suite de l'injection intra-veineuse de sérum d'anguille, très rapidement, dans un grand nombre de cas, l'iris devient rouge et il se produit une hémorragie nasale et de l'hémoglobinurie; si on recueille du sang artériel et qu'on le soumette à l'action de la force centrifuge, le sérum présente une coloration rouge très intense, due à l'hémoglobine dissoute. De plus, et nous avons déjà signalé ce fait dans les tableaux reproduits plus haut, on trouve souvent dans la vessie une urine sanguinolente, contenant des globules rouges et de l'hémoglobine dissoute; nous avons également trouvé maintes fois une abondante sérosité sanguinolente dans le péritoine et même du sang en nature extravasé en grande quantité[2]. Tous ces faits concordent pour montrer que le sérum d'anguille détruit aisément les globules rouges.

Pour déterminer l'intensité de cette action, nous avons eu recours à la méthode bien connue de Hamburger, en utilisant le procédé de A. Mosso-G. Viola[3]; nous avons par conséquent évalué la résistance des globules rouges d'un animal donné dans des solutions de sel marin à des titres divers, en appréciant la résistance par ce fait que les globules laissent plus ou moins

1. Nous nous contenterons de rappeler les travaux déjà anciens, que l'on trouve cités dans toutes les études générales sur le sang, de A. Creite (1869), de A. Rollett (1870), de L. Landois (1874), de G. Hayem (1889). Plus récemment, G. Daremberg (Sur le pouvoir destructeur du sérum sanguin pour les globules rouges. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 24 octobre 1891, p. 719) a repris l'étude de ce fait et montré que ce pouvoir globulicide est complètement aboli par le chauffage à 50-60° pendant 25-30 minutes.

2. A. Mosso (*loc. cit.*) rapporte les observations de deux cobayes empoisonnés par le sérum d'anguille, à l'autopsie desquels il trouva dans la cavité abdominale un peu de sérosité sanguinolente avec des globules rouges.

3. H.-J. Hamburger : Ueber den Einfluss chem. Verbindungen auf Blutkörperchen im Zusammenhang mit ihren Molecular-Gewichten. *Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abth.*, 1886, S. 476; Die Permeabilität der rothen Blutkörper-

facilement diffuser leur matière colorante. Nos expériences ont toujours été faites de la façon suivante : dans des tubes à essai, qu'il faut avoir soin de laver soigneusement avec de l'eau distillée et de stériliser ensuite, nous mettons 5 c. c. des solutions employées de chlorure de sodium et nous y faisons tomber une goutte de sang, pris aseptiquement dans l'artère carotide ou dans la fémorale; tous les tubes sont laissés dans le laboratoire; ils ont été quelquefois placés à l'abri de la lumière, mais nous avons reconnu que cette condition ne paraît pas exercer d'influence sur le phénomène étudié. On jugeait de la diffusion de l'hémoglobine, 16 et 24 h. plus tard, par la coloration de la solution saline.

Prenons donc une série de solutions de sel marin, à des titres variant de 0 gr. 48 à 0 gr. 70 p. 100. On sait que chez le lapin la résistance globulaire correspond en général à des solutions de chlorure à 0 gr. 58 — 0 gr. 60 p. 100. Nous avons ainsi dans cette série des solutions nettement hypoisotoniques et d'autres fortement hyperisotoniques.

Expérience VI. — Lapin albinos ♀ de 3.350 gr. Prise de sang carotidien. On fait tomber une goutte de ce sang dans tous les tubes ci-dessous, dans lesquels a été préalablement introduite une goutte de sérum d'anguille dilué de telle façon que, dans les solutions salines employées, cette dilution fût à des titres variant de 1/1.000 à 1/10.000.

TUBES TÉMOINS en gr.		TUBES contenant du sérum à 1/1000 en gr.	
0,48 NaCl p. 100	Diffusion très nette après 16 heures.	0,54 NaCl p. 100	Diffusion égale après 16 heures.
0,50		0,58	
0,52		0,60	
0,54		0,62	
0,56	Diffusion très faible.	0,64	
0,58		0,66	
0,60	Pas de diffusion.	0,68	
0,62		0,70	
0,64			

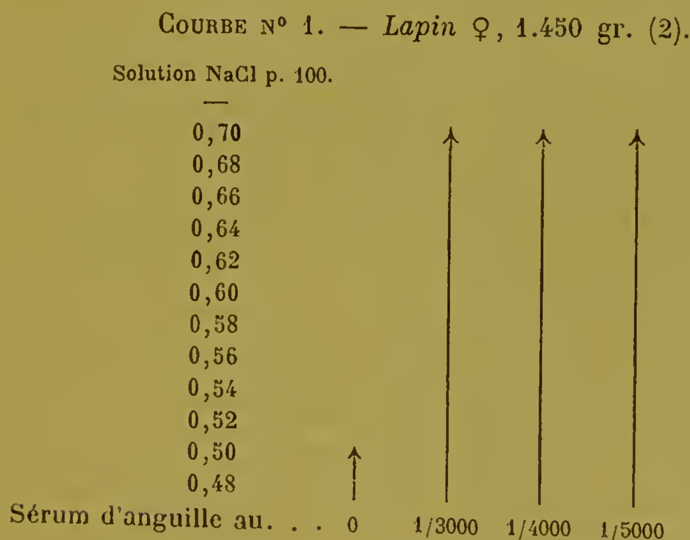
chen im Zusammenhang mit den isotonischen Coefficienten. *Zeitschr. f. Biol.*, t. XXVI, S. 414, etc. — A. Mosso : Alterazioni dei corpuscoli rossi e coagulazione del sangue. *Atti del R. Accad. di Torino*, mars 1887. — G. Viola : Alcune note intorno all' isotonia dei corpuscoli rossi dell' uomo in condizioni fisiologiche e patologiche. *Gazz. degli Ospitali*, 1894, n° 12.

Même diffusion a été constatée dans des séries de tubes identiques, mais contenant du sérum aux titres de 1/4.000, 1/6.000, 1/8.000 et 1/10.000.

Dans d'autres expériences, avec différents sérums, nous avons vu que l'action globulicide se produit encore quand le sérum est dilué à 1/15.000 et même à 1/20.000.

Nous pouvons représenter graphiquement ce phénomène en dressant des courbes d'une lecture simple et facile ; sur la ligne des ordonnées sont inscrits les titres des solutions salines employées, sur la ligne des abscisses les titres des dilutions de sérum ; un trait noir vertical[1], s'élevant plus ou moins haut, indique dans quels tubes la diffusion de l'hémoglobine a eu lieu, et par conséquent l'intensité du phénomène ; celui-ci était constaté, nous l'avons déjà dit, 16 et 24 heures après l'introduction dans les tubes de la goutte du sang dont on voulait apprécier la résistance globulaire. Voici, par exemple, deux de ces courbes :

Courbe n° 1. — *Lapin* ♀, 1.450 gr. (2).



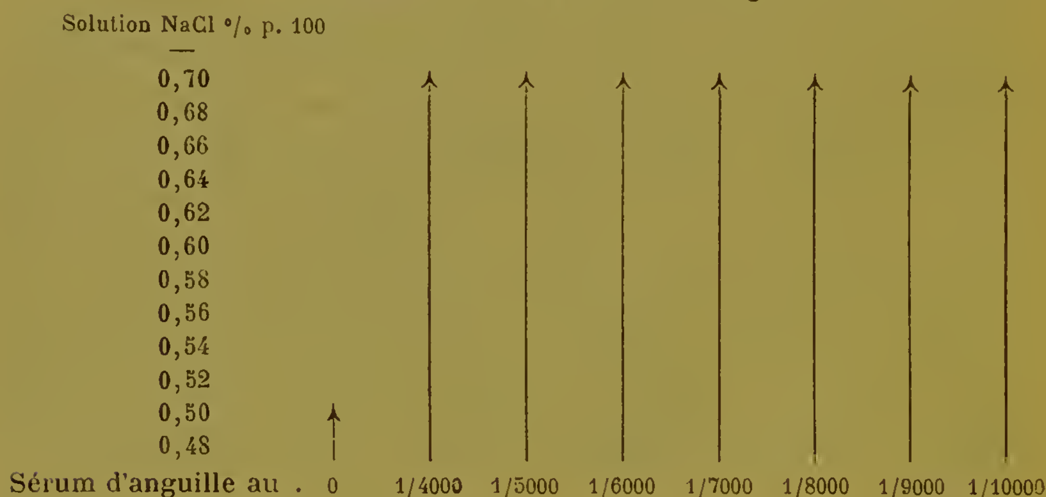
On voit que la première ligne de cette courbe indique que, dans les tubes où il n'a pas été mis de sérum d'anguille, la dif-

1. On pourrait remplacer ces traits noirs par des traits rouges plus ou moins foncés suivant l'intensité de la coloration et même, plus exactement, suivant la quantité d'hémoglobine dissoute.

2. Nous désignerons par cette brève indication l'animal qui a donné le sang servant aux expériences d'isotonie.

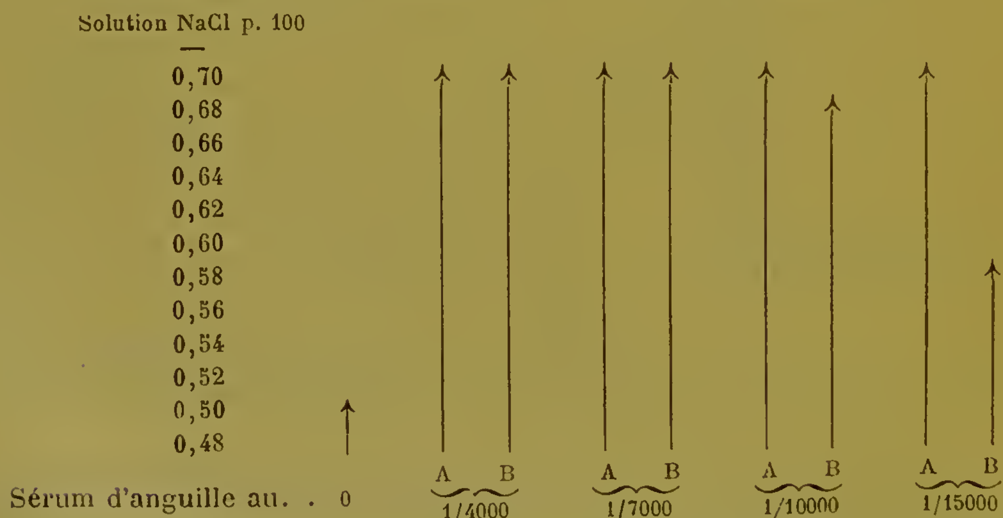
fusion ne s'est faite que dans les solutions à 0,48 et 0,50 de chlorure; les lignes suivantes montrent au contraire que, dans les tubes où on a introduit du sérum à 1/3.000, 1/4.000, 1/5.000, la diffusion s'est produite également dans tous et jusque dans les solutions à 0,70 de chlorure.

Courbe n° 2. — *Lapin* ♀, 1.685 gr.



Tous les sérums n'ont naturellement pas une égale activité. Nous choisissons, parmi nos expériences, un exemple de différence d'activité entre deux sérums recueillis le même jour, celui de l'anguille A et celui de l'anguille B (voyez la courbe n° 3).

Courbe n° 3. — *Lapin* ♀, 1.590 gr. Sang carotidien.



Cette action dissolvante est donc extrêmement intense. Nous

avons cependant rencontré quelques sérums qui la possédaient à un moindre degré : l'un, par exemple, globulicide à 1/3.000, ne l'était plus à partir de 1/5.000; un autre, beaucoup moins actif encore, ne déterminait plus de diffusion à partir de la dilution à 1/500; mais c'est le seul que nous ayons trouvé relativement aussi faible.

Les mêmes expériences faites avec du sang de cobaye ont donné des résultats identiques. Cependant, d'après quelques expériences comparatives, il nous a semblé que les globules du lapin sont encore moins résistants que ceux du cobaye.

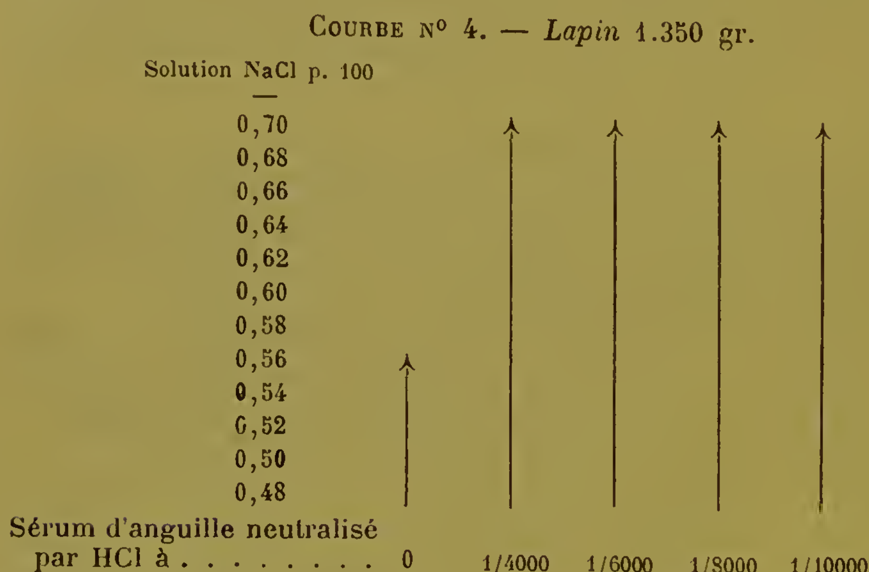
Nous verrons plus loin que le sang d'un insectivore, le hérisson, se comporte au contraire tout différemment et offre une grande résistance à l'action globulicide du sérum d'anguille.

2. Influences qui modifient cette action globulicide. — a) *Influence des variations de l'équilibre osmotique.* — Le titre de la solution saline employée dans les expériences d'isotonie a-t-il quelque influence sur le phénomène que nous étudions? On a vu que, dans des solutions nettement hyperisotoniques, à 0 gr. 70 p. 100 NaCl, l'action globulicide se produit aussi bien que dans des solutions isotoniques, même quand le sérum est très dilué, à 1/10.000, par exemple. Néanmoins, quand on arrive à la limite de l'action, il semble bien que le titre de la solution saline (voir courbe n° 3, action du sérum B) prenne quelque importance. Cette réserve faite, on peut penser que l'action dont il s'agit est une action chimique qui s'exerce à peu près indépendamment des phénomènes physiques que mettent en jeu les expériences d'isotonie. Dans nos recherches, en effet, des quantités presque infinitésimales de matière, et en elles-mêmes et par rapport au volume des solutions isotoniques, suffisent à modifier très profondément le globule. Il y a là une preuve certaine que les lois physiques relatives à l'équilibre osmotique d'un élément cellulaire ne s'appliquent qu'autant que n'intervient aucune influence chimique susceptible d'agir sur cette cellule.

b) *Influence de la réaction.* — Le sérum d'anguille est fortement alcalin. Nous nous sommes demandé si, en le neutralisant, on ne modifierait pas son pouvoir globulicide. Les essais

que nous avons faits dans ce but se sont montrés négatifs ; neutralisé par de l'acide chlorhydrique, le sérum ne perd rien de ce pouvoir, comme le prouve la courbe ci-dessous :

Courbe n° 4. — *Lapin* 1.350 gr.



c) *Influence de divers agents chimiques.* — On pouvait penser que d'autres influences chimiques agiraient plus efficacement. Nous avons essayé dans ce but divers produits de décomposition des matières albuminoïdes, la leucine et la tyrosine, et quelques liquides organiques, sérum d'autres animaux, bile de chien, de cobaye et d'anguille.

Action de la leucine et de la tyrosine. — Le choix des premières substances, leucine et tyrosine, n'était pas sans raisons. Au cours de recherches sur les ferments digestifs [1], nous avions cru remarquer dans quelques expériences que ces substances empêchent l'action de la présure; c'était là une interprétation erronée du résultat d'expériences dans lesquelles, comme nous le reconnûmes bientôt, l'activité de la présure se trouvait diminuée ou supprimée simplement par l'eau distillée. Néanmoins, comme pour d'autres motifs encore nous étions portés à rapprocher l'action du sérum d'anguille d'une action de ferment, cette interprétation passagère nous conduisit à rechercher si la leucine et la tyrosine n'exercent pas quelque influence empê-

1. Voyez les indications bibliographiques données page 21.

chante sur le pouvoir globulicide. Nous vîmes qu'il n'en est rien. Ces corps étant très peu solubles dans l'eau, nous avons employé des solutions saturées à 100°, dont nous faisions tomber une goutte dans les 5 c. c. de solution saline servant aux expériences d'isotonie, comme il a été indiqué plus haut; or, dans ces conditions, les dilutions de sérum même au 1/10.000 se sont montrées aussi actives que dans les tubes témoins (sans leucine ou tyrosine).

Action de la bile. — La bile n'a pas plus d'action, celle de l'anguille même ou du cobaye, comme celle du chien, à la dose de 1 ou 2 gouttes pour les 5 c. c. des solutions servant aux essais, et cela vis-à-vis du sérum très dilué, à 1/10.000, par exemple.

Remarquons à ce propos que la bile par elle-même ne manifeste pas d'action globulicide dans ces conditions, contrairement à ce que l'on pourrait croire. On admet en effet que la bile détruit les globules sanguins. Aux doses auxquelles nous l'avons employée, c'est-à-dire à des doses très fortes, étant donné que dans nos tubes il n'y a qu'une goutte de sang, nous n'avons rien constaté de tel. Dans quelques cas cependant, nous avons neutralisé de la bile d'anguille (trouvée légèrement acide au papier de tournesol), et nous avons observé que cette bile ainsi traitée détermine une diffusion marquée de l'hémoglobine. Ce fait servirait peut-être à expliquer la différence entre l'action de la bile *in vitro*, non globulicide, comme nous venons de le dire, et *in vivo*, suivant l'opinion reçue, quand ce liquide, passant dans le sang et y trouvant un milieu alcalin, peut alors agir sur les globules. Encore est-il bon de rappeler que Hayem[1] a parfaitement indiqué que le sérum des ictériques ne contient pas d'hémoglobine dissoute.

Action de divers sérums. — Quant aux divers sérums que nous avons étudiés à ce point de vue, ni celui du hérisson, ni celui du cobaye ou du lapin, ni celui du chien, employés tels quels ou préalablement chauffés, n'empêchent l'action globulicide du sérum d'anguille. Il faut avoir soin dans ces expériences, bien

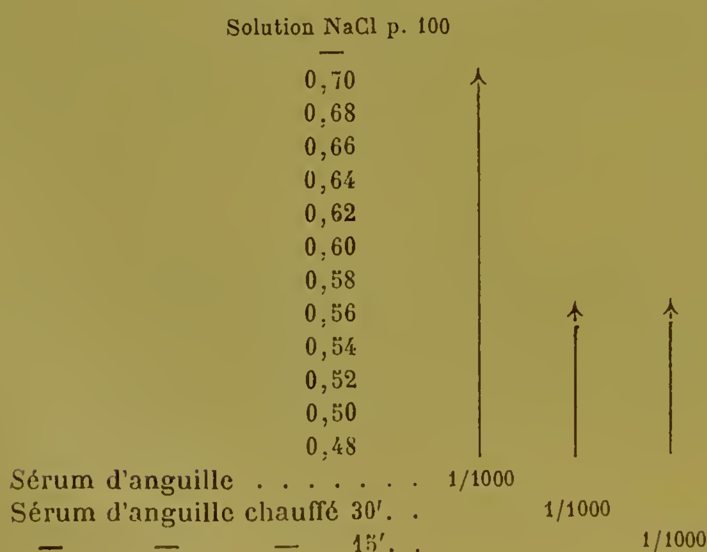
1. G. Hayem : *Du sang et de ses altérations anatomiques*, Paris, 1889, p. 516.

entendu, de tenir compte de l'action globulicide propre du sérum employé, quand il sert pour éprouver celle du sérum d'une autre espèce animale.

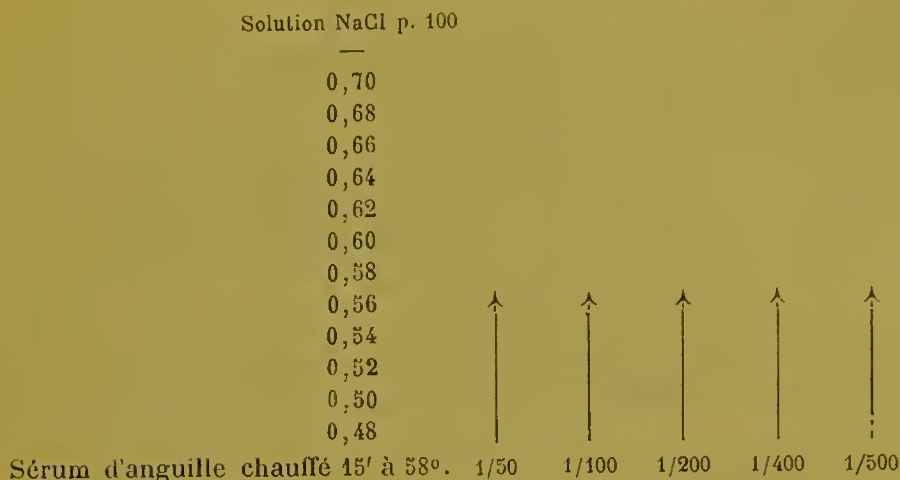
Mais il est une condition dans laquelle un sérum, celui du lapin ou du cobaye, par exemple, acquiert à un haut degré la propriété de s'opposer à l'action globulicide de l'ichtyotoxique, c'est lorsque le sérum provient d'animaux immunisés contre ce poison. Nous étudions plus loin ce phénomène d'une manière détaillée (voyez 2e partie, p. 67).

d) *Influence de la chaleur.* — C'est sous l'influence d'une action physique, de la chaleur, que le sérum d'anguille perd aisément sa propriété globulicide. On sait, d'ailleurs, que le chauffage à 58-60°, pendant 30 ou même seulement 15 m., d'un sérum quelconque enlève à celui-ci son action dissolvante sur les globules rouges du sang d'une autre espèce; les expériences de G. Daremberg (voyez p. 35, note 1) sur ce point sont très nettes. Or, nous avons constaté par un grand nombre d'expériences que le sérum d'anguille chauffé à 58° durant 15 m. perd tout pouvoir globulicide sur le sang du lapin ou du cobaye, même quand on l'emploie à des doses très fortes, 1/50 par exemple, et même non dilué. Ce n'est pas d'une atténuation d'action qu'il s'agit, mais d'une suppression absolue. Les deux courbes ci-dessous suffiront à montrer le phénomène :

Courbe n° 5. — *Lapin* albinos ♀, 5 kgr.



Courbe n° 6. — *Lapin* ♀, 2.630 gr.



Cette influence de la chaleur modérée ne conduit-elle pas à penser que la propriété globulicide est quelque chose d'analogue à une propriété de ferment? Il est facile de montrer que le sérum d'anguille, au point de vue de l'action en général de la chaleur sur sa propriété globulicide, se comporte de façon différente suivant la température : la température de zéro ralentit le phénomène et les températures de 20° à 40° l'accélèrent; l'expérience suivante suffira à le montrer :

Expérience VII. — Lapin albinos ♂ de 1.060 gr. Prise de sang dans la carotide droite; à 10 h. 30 m., on en fait tomber une goutte dans chacun des tubes ci-dessous qui contiennent 5 c. c. NaCl à 0,66 p. 100 (solution légèrement hyperisotonique) et du sérum d'anguille à des titres divers; on dispose trois séries de tubes que l'on place, les uns à la température de zéro, les autres à 23° et les derniers à 36°; voici ce que l'on a observé :

		Avec 1 goutte sérum d'anguille	DIFFUSION
0°	Tube n° 1. . .	à 1/1000	Pas de diffusion à 12 heures; diffusion à 1 h. 45.
	— n° 2. . .	à 1/4000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; légère diffusion à 3 h.
	— n° 3. . .	à 1/8000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.
	— n° 4. . .	à 1/10000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.

		Avec 1 goutte sérum d'anguille	DIFFUSION
23°	Tube n° 1. . .	à 1/1000	Diffusion à 12 heures.
	— n° 2. . .	à 1/4000	Pas de diffusion à 12 heures; très légère diffusion à 1 h. 45.
	— n° 3. . .	à 1/8000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.
	— n° 4. . .	à 1/10000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.
36°	Tube n° 1. . .	à 1/1000	Duffusion plus marquée à 12 heures.
	— n° 2. . .	à 1/4000	Pas de diffusion à 12 heures; diffusion légère à 1 h. 45.
	— n° 3. . .	à 1/8000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.
	— n° 4. . .	à 1/10000	Pas de diffusion à 12 heures; pas de diffusion à 1 h. 45; pas de diffusion à 3 h.

Le phénomène s'est donc passé, à très peu près, à 23° comme à 36°; mais, entre les tubes maintenus à 0° et les deux autres séries, il y a des différences très nettes[1].

Il nous semble encore intéressant de remarquer au sujet de ces expériences, que ce sérum, qui a perdu par le chauffage tout pouvoir globulicide, n'est pas pour cela devenu antiglobulicide. Au cours de leurs recherches sur le venin de la vipère, Phisalix et Bertrand ont trouvé que le sérum sanguin de cet animal, chauffé à 58°, perd ses propriétés toxiques et manifeste des propriétés antitoxiques et immunisantes; et leurs expériences les ont conduits à conclure que ces propriétés préexistent dans le sang[2]. On voit que le sérum d'anguille, au moins en ce qui concerne sa propriété globulicide, se comporte autrement. Nous reviendrons, d'ailleurs, sur ce point dans la seconde partie de ce travail[3].

1. A partir de 4 heures, on a abandonné tous les tubes à la température du laboratoire et, comme d'habitude, après 24 heures, il y avait diffusion de l'hémoglobine dans tous.

2. Phisalix et Bertrand : Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 novembre 1895, p. 751. Ces auteurs ont d'ailleurs relaté d'autres expériences d'après lesquelles ils considèrent ce fait comme général (Phisalix et Bertrand : Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1895, p. 639; Sur l'existence à l'état normal, de substances antivenimeuses dans le sang de quelques mammifères sensibles au venin de vipère. *Ibid.*, 18 avril 1896, p. 396.)

3. A côté de l'action du sérum d'anguille sur les globules, il y aurait eu lieu peut-être d'étudier son action sur la fibrine. On peut, en effet, constater aisé-

2° Action sur le cœur et sur la circulation.

Nous n'avons pas voulu entreprendre une étude analytique des troubles cardio-vasculaires provoqués par l'injection intra-veineuse de sérum d'anguille. A. Mosso a commencé cette étude. Nous avons signalé l'intérêt des modifications cardiaques que l'on peut observer chez le lapin à l'un des travailleurs du laboratoire, M. E. Bardier, qui a publié sur cette question une note préliminaire[1]. Dans cette note, Bardier décrit une phase de ralentissement du cœur, suivie d'une phase d'irrégularité dans les battements.

Il importe d'indiquer que, chez les lapins immunisés que nous avons mis aussi à sa disposition, ces troubles ne se produisent pas.

Signalons quelques autres faits. Avec les doses rapidement mortelles, toujours la respiration s'arrête avant le cœur; à l'ouverture du thorax, si elle est faite tout de suite après la cessation des mouvements respiratoires, on trouve le cœur battant encore.

La circulation périphérique n'est pas moins troublée. Il est facile de voir que les vaisseaux de l'oreille, chez le lapin, quand la mort n'est pas immédiate (c'est-à-dire ne survient pas en quelques minutes), se dilatent d'abord, puis se resserrent plus ou moins, quelquefois à un haut degré.

Si on enregistre les variations de la pression intra-carotidienne au moyen d'un manomètre à mercure, sur un lapin qui a reçu une dose moyenne (0,2 c. c. pour un animal de 1.700 à 1.800 gr.), après une légère élévation, on remarque que la pression s'abaisse un peu; cette chute est interrompue par moments par des éléva-

ment que le coagulum que donne le sang de l'anguille se redissout rapidement; la fibrinolyse est là très marquée. Mais si l'on met directement en contact un flocon de fibrine, même très petit, avec du sérum d'anguille, ce flocon reste inattaqué, dans les conditions les plus favorables de digestion artificielle. Bien mieux, la présence de sérum d'anguille n'empêche pas la formation de la fibrine, quand à un plasma oxalaté très dilué on ajoute une petite quantité de chlorure de calcium. Nous nous sommes assurés d'ailleurs que ce dernier corps, à la même dose, n'est pas antiglobulicide.

1. E. Bardier : Action cardiaque du sérum d'anguille. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 14 mai 1898, p. 548.

tions soudaines correspondant aux accès de mouvements convulsifs que présente l'animal. Ce sont là des observations analogues à celles que A. Mosso avait déjà faites.

Il y a des cas dans lesquels la vaso-dilatation doit être considérable, puisque l'on peut observer des hyperémies intenses. Nous avons trouvé maintes fois à l'autopsie les viscères très congestionnés et des suffusions sanguines dans le péritoine. Il est vrai qu'il est permis de se demander si ce phénomène ne dépendrait pas plutôt d'une altération de l'endothélium vasculaire; ceci étant, le sang passe à travers les épithéliums et, comme il est incoagulable, il reste à l'état liquide dans les cavités séreuses. On peut penser que les substances dites hémorrhagipares agissent souvent de cette façon.

3° Action sur le système nerveux.

La description que nous avons donnée dans le chapitre I (p. 24 et suiv.) des accidents de nature convulsive ou d'ordre paralytique montre combien le système nerveux central est atteint par le sérum d'anguille. Quelques observations détaillées ne seront pas inutiles ici.

Expérience VIII. — Cobaye ♀ de 374 gr. On injecte dans la veine jugulaire droite, à 5 h. 26 m., 0,01 c. c. de sérum, dilué dans 0,25 c. c. d'eau salée à 8 p. 100. Pas d'accidents immédiats. Le lendemain, en le prenant, on voit éclater brusquement une attaque convulsive, consistant en contractions cloniques; puis le train postérieur se paralyse. De 4 h. 30 m. à 5 h., on note plus de dix attaques spontanées; les phénomènes relevés sont les suivants : efforts de vomissements, secousses des masséters et de tous les muscles, chute sur le flanc, sécrétions lacrymale et salivaire, miction (urines claires), paralysie des extenseurs; par moments, l'animal se redresse et peut se tenir sur ses pattes, puis une nouvelle attaque survient. A 5 h. 12 m., température rectale = 39°,6. Mort de l'animal à ce moment. La rigidité cadavérique arrive presque immédiatement.

Expérience IX. — Cobaye ♀ de 432 gr. Injection dans la veine

jugulaire droite, à 6 h. 18 m., de 0,02 c. c. de sérum d'anguille, dilué dans 0,5 d'eau salée. Quelques accidents immédiats : mâchonnements, abattement; plus tard, accélération respiratoire, tremblements généralisés (vers 6 h. 30 m.). L'animal se remet. Le lendemain, vers 5 h., contracture très forte des membres, salivation; puis phase d'attitudes forcées, caractérisées par l'écartement et la raideur des pattes et par de l'opisthonos; en même temps, secousses dissociées des muscles des cuisses (analogues à celles que l'on constate souvent chez les animaux thyroïdectomisés et que l'animal précédent a aussi présentées); à 5 h. 55 m., la température rectale = 38°,6; de 6 h. à 6 h. 15 m., polypnée très intense. Le lendemain matin, on trouve l'animal mort.

On remarquera que, malgré les mouvements convulsifs, il n'y a pas eu chez ces animaux d'élévation thermique.

Il ne nous semble pas nécessaire de multiplier les observations analogues.

Expérience X. — Lapin albinos ♀ de 1.450 gr. De 5 h. 23 m. à 5 h. 24 m., injection dans la veine marginale de l'oreille gauche de 0,4 c. c. de sérum dilué dans 4 c. c. d'eau salée. Dilatation immédiate des vaisseaux de cette oreille. A 5 h. 25 m., paralysie du train postérieur; puis l'animal se relève pour s'affaisser de nouveau; polypnée; vaso-constriction auriculaire des deux côtés à 5 h. 28 m. A 5 h. 29 m., l'animal se met à marcher. A partir de 5 h. 35, on observe par moments des contractions fibrillaires des masséters; la salivation s'établit à ce moment. L'animal s'affaisse alors de nouveau, reste étendu sur le flanc et présente une violente dyspnée. A 6 h. 15 m., on constate que la sensibilité à la douleur est perdue; on peut marcher sur les pattes sans que l'animal réagisse; cependant le réflexe rotulien est conservé. A 6 h. 33 m., température rectale = 35°,9. A 6 h. 50 m., la pression d'une patte antérieure provoque un mouvement (sensibilité douloureuse reparue). A 6 h. 55 m., le réflexe rotulien est très affaibli et plus à droite qu'à gauche. Par la pression d'une patte antérieure, très léger mouvement de défense : la patte se retire un peu. A 7 h. 10 m., même état;

dyspnée encore plus forte. On trouve l'animal mort le lendemain matin.

D'autres observations à peu près semblables nous ont montré que la sensibilité à la douleur diminue chez le lapin. Le réflexe patellaire est conservé, mais s'affaiblit peu à peu jusqu'à la mort.

Tous ces troubles nerveux mériteraient, sans doute, une étude analytique. Les longues recherches dont on trouvera la relation dans la seconde partie de ce mémoire ne nous ont pas permis de l'entreprendre. Il est à supposer que le système nerveux, la moelle surtout, doit présenter des lésions graves, faciles à déceler grâce aux méthodes actuelles de fixation et de coloration des tissus. Nous avons déjà dit (voyez p. 30) que H. Kossel et A. Westphal avaient, en effet, trouvé des altérations importantes des cellules de la moelle.

4° Action sur l'œil.

Nous avons observé, du côté de cet organe, quelques faits qui n'avaient pas été, croyons-nous, signalés jusqu'à présent : d'abord, dans quelques cas, à une phase avancée de l'intoxication du ptosis[1]; d'autres fois, quoique assez rarement, une exophtalmie très marquée; nous rapporterons à ce propos une expérience curieuse.

Expérience XI. — Lapin albinos ♀, de 4 kilogr. A 6 h. 39 m., injection dans la veine marginale de l'oreille droite de 0,3 c. c. de sérum dilué dans 3 c. c. d'eau salée à 8 p. 1000. Myosis à droite; la pupille gauche ne subit aucune modification. De 6 h. 40 m. à 6 h. 42 m. 30 sec., on voit une exophtalmie considérable se produire; les globes oculaires, énormes, s'avancent littéralement hors des orbites : le phénomène est aussi étrange que saisissant; puis ils reculent pour ainsi dire, rentrent dans les orbites. Vaso-dilatation auriculaire très marquée et myosis des deux côtés. A 6 h. 45 m., myosis à gauche, pupille plus dilatée à

1. Calmette (*Le venin des serpents, Physiologie de l'envenimation*, Paris, 1896) a vu le venin de serpents donner lieu à du ptosis, surtout chez le singe.

droite; dyspnée. A 6 h. 50 m., l'animal s'affaisse; salivation; paralysie du train postérieur, puis du train antérieur presque en même temps. A 6 h. 55 m., la vaso-constriction remplace la vaso-dilatation auriculaire; myosis de plus en plus marqué. Convulsions et mort à 7 h. Hémorragie nasale.

Il est rare, toutefois, que l'exophtalmie, quand elle se produit, soit aussi marquée qu'elle l'a été sur cet animal.

Quant au myosis, il est presque constant[1]. A la suite de l'injection intra-veineuse de la dose habituelle de sérum, la pupille se rétrécit; ce resserrement est souvent égal des deux côtés, d'autres fois, il est plus marqué d'un côté que de l'autre.

L'instillation ou l'injection intra-veineuse préalable de sulfate d'atropine n'empêche pas ce myosis. Quand celui-ci est réalisé, si on instille de l'atropine dans l'œil, le phénomène ne se modifie pas; au contraire, l'injection intra-veineuse de cette substance le diminue, sans cependant amener une dilatation pupillaire égale à celle qui surviendrait chez un animal normal. De même, l'excitation du segment céphalique du sympathique cervical fait dilater la pupille resserrée d'un lapin qui a reçu du sérum d'anguille. D'autre part, l'extirpation préalable du ganglion cervical supérieur d'un côté n'empêche pas la pupille de ce côté de se rétrécir. — L'action myotique du sérum n'est donc pas due à une paralysie des fibres sympathiques irido-dilatatrices. Tient-elle à une excitation des filets irido-constricteurs? Nous avons essayé de trancher la question en pratiquant la section intra-cranienne du nerf moteur oculaire commun sur quelques lapins. On sait combien cette opération est difficile à réussir dans de bonnes conditions, c'est-à-dire de manière à ce que les animaux puissent être ensuite observés convenablement. Quelques-uns de ces lapins sont morts d'hémorragie et sur quelques autres la section du nerf avait été incomplète. Nous n'avons pas poursuivi ces essais. — Une autre observation nous a donné à penser que le sérum, quand même il exciterait les filets irido-constricteurs, pourrait bien agir aussi sur les éléments musculaires de l'iris,

1. Nous avons eu quelquefois, mais très rarement, des sérums qui ne le déterminaient pas. Voyez, par exemple, les expériences IV et V, p. 33.

c'est qu'après la mort le myosis est persistant; ce phénomène est extrêmement net[1].

L'instillation directe du sérum (1 goutte dans l'œil) ne donne lieu qu'à un faible effet myotique, appréciable seulement par une comparaison attentive. Cette instillation irrite et congestionne fortement la cornée et la conjonctive.

Le sérum chauffé à 58° durant 15 m. a perdu son action myotique.

Enfin, sur les animaux immunisés de la façon qui sera indiquée plus loin, l'injection intra-veineuse de sérum ne produit pas non plus le myosis. Par l'état d'immunité, la manifestation de cette action physiologique est donc empêchée.

III. — Conclusions.

Résumons maintenant, d'une façon brève, les faits essentiels et nouveaux que nous avons constatés au cours de ces recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille.

C'est d'abord l'action globulicide si intense de ce sérum que nous avons étudiée en détail, avec les conséquences toxiques qu'elle comporte (hémoglobinémie, hémoglobinurie, phénomènes toxiques dépendant de cette destruction d'un grand nombre de globules). — L'analyse de ce fait nous a conduits à rechercher s'il n'y aurait pas moyen de l'empêcher. De là nos expériences d'immunisation et celles sur l'action antiglobulicide du sérum des animaux immunisés, dont l'exposé constitue la seconde partie de ce travail.

Parmi les phénomènes neuro-musculaires, outre la distinction que nous avons faite de deux formes de troubles nerveux, convulsifs et paralytiques, nous avons noté la production de

1. Cette observation suffit à combattre une hypothèse que l'on aurait pu faire encore pour expliquer le myosis, à savoir que celui-ci tiendrait à la congestion de l'iris. Cette congestion est d'ailleurs très réelle; nous avons déjà signalé l'injection si marquée de cette membrane qui survient sous l'influence du sérum d'anguille et dont nous avons pu suivre aisément les progrès sur les nombreux lapins albinos sur lesquels nous avons expérimenté.

secousses fibrillaires très caractéristiques dans différents groupes de muscles.

D'autre part, nous signalons une action excito-sécrétoire remarquable (larmoiement, salivation) qui mériterait d'être étudiée de près.

Nous avons aussi montré que le sérum d'anguille est un myotique puissant.

Enfin, rappelons l'interprétation que nous avons été amenés à donner des causes de la toxicité propre à ce sérum.

SECONDE PARTIE

I. — Immunité naturelle du hérisson vis-à-vis du sérum d'anguille.

1° Immunité du hérisson contre l'action toxique.

Les phénomènes que nous venons d'étudier ne sont pas présentés par tous les animaux auxquels on injecte du sérum d'anguille. C'est ainsi que le hérisson (*Erinaceus europæus*) est doué d'une remarquable immunité naturelle contre ce poison [1]. Quelques expériences le montreront.

Expérience XII. — Hérisson ♀ de 540 gr. De 5 h. 32 m. à 5 h. 48 m. injection dans la veine jugulaire droite de 0,2 de sérum dilué dans 2 c. c. d'eau salée ; rien de particulier à noter. De 5 h. 45 m. à 6 h. injection de 0,7 c. c. ; pas de troubles apparents, sauf une défécation abondante vers 5 h. 50 m. L'animal est cependant malade, car, détaché, il reste étendu sur la table, sans se mettre en boule ; vers 6 h. 30 m. la dyspnée s'établit ; cet état d'abattement devient plus grave encore vers 7 h. Le lendemain matin on trouve l'animal mort. Il avait donc reçu en tout 0,9 c. c. de sérum d'anguille.

1. Nous avons signalé ce fait à la Société de Biologie (L. Camus et E. Gley : De la toxicité du sérum d'anguille pour des animaux d'espèces différente (lapin, cobaye, hérisson. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, p. 129).

Par comparaison, un cobaye de 590 gr. est mort en 1 m. après l'injection intra-veineuse de 0,1 du même sérum, c'est-à-dire d'ailleurs, d'après tout ce que nous avons vu précédemment, d'une dose beaucoup trop forte encore (quatre ou cinq fois trop forte).

Expérience XIII. — Hérisson ♂ de 585 gr. De 11 h. 30 m. à 11 h. 47 m., injection dans la veine jugulaire droite de 1,1 c. c. de sérum d'anguille dilué dans 9 c. c. d'eau salée à 8 p. 1000. La dyspnée avec râle trachéal a commencé à 11 h. 37; brusquement, à midi, l'animal se raidit et la respiration s'arrête. A l'ouverture du thorax, pratiquée immédiatement, le cœur bat.

Ainsi, ces animaux, sans mourir sur le coup et sans être frappés des accidents aigus auxquels succombent si rapidement les lapins et les cobayes, supportent des doses considérables d'ichtyotoxique; on peut admettre qu'ils ne meurent qu'avec une dose 40 ou 50 fois plus forte que celle qui est nécessaire pour tuer presque instantanément le cobaye[1].

Faute d'un nombre suffisant de hérissons, nous avons dû nous borner à ce type d'expériences dans lesquelles on recherche la dose mortelle d'emblée[2].

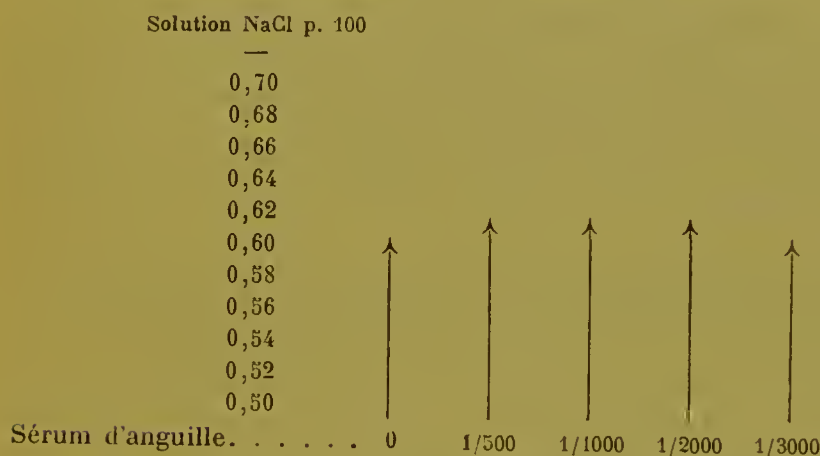
1. Phisalix et Bertrand (Recherches sur l'immunité du hérisson contre le venin de vipère. *C.R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1895, p. 639) ont montré que le hérisson offre au venin de vipère une résistance 35 à 40 fois plus grande que celle du cobaye; Calmette et Deléarde (Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les sérums antitoxiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. X, p. 675-707, 1896) ont de même établi qu'il faut pour tuer cet animal une dose d'abrine 10 fois plus forte que celle qui tue le lapin. — C'est donc un fait général que cette immunité du hérisson ; elle existe, en effet, vis-à-vis de toutes ces substances, toxines, venins, sérums toxiques, qui, par beaucoup de propriétés qu'elles ont en commun, forment un groupe naturel.

2. Dans quelques autres expériences, mais en trop petit nombre pour que nous puissions en tirer une conclusion ferme, nous avons vu que le hérisson résiste moins bien aux petites doses répétées, comme celles que l'on emploie pour immuniser le lapin ou le cobaye; il dépérit et meurt assez rapidement. Ainsi, un de ces animaux (♂ de 735 gr.), après avoir reçu à trois jours d'intervalle chaque fois 0,05 c.c. de sérum d'anguille, est mort au bout de 7 jours, ne pesant plus que 660 gr. On peut objecter, il est vrai, ou bien qu'il s'agissait d'un animal par hasard peu réfractaire, ou bien que le sérum d'anguille employé était exceptionnellement toxique.

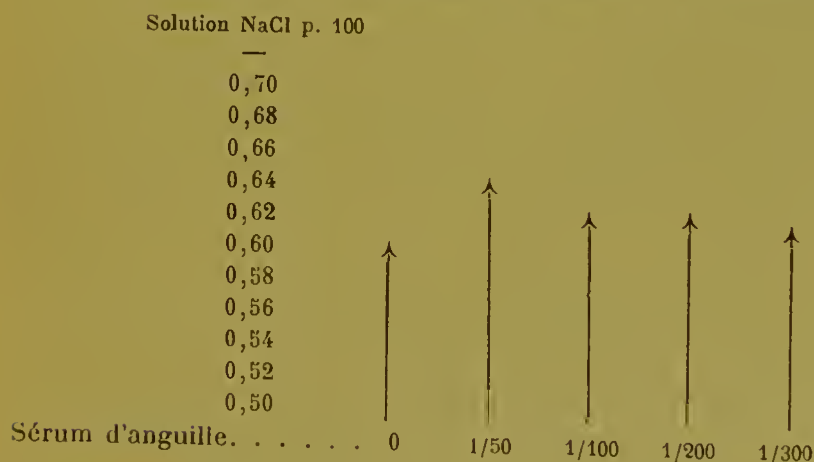
2° Immunité du hérisson contre l'action globulicide[1].

Il importe de remarquer tout de suite que les globules rouges du hérisson offrent une très grande résistance à l'action dissolvante du sérum d'anguille. On peut en juger par la seule inspection des courbes suivantes :

Courbe n° 7. — *Hérisson* ♂, 685 gr.



Courbe n° 8. — *Hérisson* ♂, 828 gr. T. rectale = 37°,4.



On voit donc que, même à 1/50, le sérum d'anguille n'exerce qu'une très faible action globulicide sur le sang de hérisson.

1. Nous avons constaté que les globules du hérisson paraissent doués de la même résistance vis-à-vis de tout autre sérum globulicide ; c'est ainsi qu'ils résistent absolument à l'action du sérum de chien, à la dose de 1/100, dose qui fait nettement diffuser l'hémoglobine des globules du cobaye.

Nous avons déjà indiqué la conséquence (voyez p. 33) qui sort de ce résultat au point de vue de la relation à établir entre la toxicité générale et l'action globulicide de l'ichtyotoxique.

II. — Immunisation contre l'action toxique du sérum d'anguille et particulièrement contre son action globulicide.

Ces expériences sur des animaux pourvus de l'immunité naturelle vis-à-vis du sérum d'anguille nous ont fait entreprendre l'étude de l'immunisation d'animaux très sensibles à ce poison, comme le lapin et le cobaye. Ces essais ont porté sur l'action toxique et, d'autre part, et plus spécialement, sur l'action globulicide.

Cette division ne signifie pas que l'on puisse immuniser séparément contre l'une ou l'autre de ces actions (voyez d'ailleurs ce que nous avons dit page 33 de leur étroite relation), mais simplement que, dans beaucoup de cas, nous avons jugé du degré d'immunité des animaux par la résistance acquise à l'action globulicide. L'intérêt fondamental et le principal avantage de l'étude que nous avons poursuivie nous paraît en effet consister en ce que, grâce au procédé facile non moins que rigoureux que nous connaissons d'évaluation *in vitro* du pouvoir globulicide et de ses variations, nous pouvons en quelque sorte avoir une mesure de l'immunité, une mesure suffisamment exacte. Les conditions du problème si complexe de l'immunité se trouvent en outre singulièrement simplifiées par ce fait que, dans cette dernière sorte d'expériences, est mis en jeu un seul élément anatomique, le globule rouge, séparé de l'organisme et ainsi soustrait à toutes les influences qui compliquent *in vivo* ses réactions, les influences nerveuses par exemple. Voilà pourquoi nous étudierons dans un chapitre spécial l'immunisation contre l'action globulicide.

1° Immunisation contre l'action toxique.

Cette partie de la question n'est pas neuve. Déjà plusieurs expérimentateurs avaient montré que l'on peut immuniser des animaux d'espèces diverses contre le sérum d'anguille.

Les recherches de J. Héricourt et Ch. Richet[1] ont établi que l'injection sous-cutanée de sérum d'anguille chez le chien donne lieu à une réaction à la suite de laquelle le sérum sanguin de l'animal contient « une antitoxine immunisante »; en effet, le sérum d'un chien ainsi traité préserve le lapin contre l'action toxique du sérum d'anguille[2]. D'autre part, le mélange *in vitro* de sérum d'anguille et de sérum antitoxique rend le premier de ces liquides inefficace; on peut injecter impunément ce mélange à des lapins. Les injections étaient faites dans les veines. Les auteurs admettent que l'antitoxine agit sur la toxine comme une substance chimique neutralisante, appliquant ainsi à ce cas particulier les idées de Ehrlich et de Behring. Nous verrons plus loin que l'action réciproque de la substance globulicide du sérum d'anguille et de la substance antiglobulicide du sérum d'animal immunisé paraît devoir s'expliquer de la même façon.

Carlo Maglieri[3] a fait sur des lapins des expériences analogues à celles de Héricourt et Richet, et réussi à immuniser ces animaux par des injections intra-veineuses de petites doses progressivement croissantes de sérum; il commençait par un dixième de

1. J. Héricourt et Ch. Richet : Action locale du sérum d'anguille. Sérothérapie contre les effets toxiques du sérum d'anguille. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 janvier 1897, p. 74; Sérothérapie *in vitro* dans l'intoxication par le sang d'anguille. *Ibid.*, 10 avril 1897, p. 367.

Antérieurement, Phisalix (Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 28 décembre 1896, p. 1305) avait montré que le sérum d'anguille chauffé (à 58° pendant 15 min.) immunise le cobaye contre le venin de vipère.

2. Héricourt et Richet ont soin de rappeler que cette simple et démonstrative expérience est conçue et réalisée sur le type de celle que Phisalix et Bertrand (Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 10 février 1894, p. 111; Propriétés antitoxiques du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VI, p. 611-619, 1894) ont faite avec le venin de vipère.

3. C. Maglieri : Sull'azione tossica, immunizzante et battericida del siero di sangue di anguilla. *Annali d'Igiene sperimentale*, N. S., t. VII, p. 191-214, 1897.

la dose mortelle (qu'il avait préalablement déterminée), et augmentait cette quantité de 1/10e tous les jours; la dose mortelle étant atteinte, il injectait le lendemain 1 dose mortelle et demie, puis 2 et 3; il a constaté que les lapins ainsi traités arrivent à supporter 20 fois la dose toxique. Le sérum de ces animaux, injecté dans le péritoine, protège les cobayes contre les effets d'une injection intra-péritonéale de sérum d'anguille. Injecté dans les veines en même temps que ce dernier, il ne manifesterait pas ses propriétés immunisantes. Ce résultat est en contradiction apparente avec les résultats des expériences de Héricourt et Richet, mais il faut remarquer que les auteurs français ont opéré dans des conditions différentes, se servant de sérum de chien qui pourrait être plus actif que le sérum de lapin immunisé et injectant ce sérum à des lapins.

Wehrmann[1] a également immunisé des lapins contre le sérum d'anguille au moyen d'injections intra-veineuses de petites doses de ce poison.

Nous avons à notre tour employé, pour immuniser des lapins ou des cobayes, le même procédé des injections répétées à intervalles plus ou moins rapprochés, suivant l'état des animaux, de petites quantités de sérum normal d'anguille; et nous avons semblablement vu que les animaux ainsi traités peuvent, au bout de quelque temps, résister à des doses toxiques de sérum d'anguille. Mais le fait nouveau que nous avons trouvé, pour la recherche duquel d'ailleurs ces expériences avaient été instituées, c'est que le sérum sanguin de ces animaux a acquis des propriétés antiglobulicides, *in vitro* et *in vivo*; nous reviendrons plus loin sur ce fait.

Nous avons aussi cherché si, par d'autres moyens, on ne réussirait pas à conférer cette même immunité. Nous répartirons ces différents moyens en cinq classes :

1. Essais avec du sérum d'anguille ayant subi divers traitements, chauffage, neutralisation;

2. Essais avec du sérum d'animaux naturellement réfrac-

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XI, p. 810-828, 1897.

taires; nous avons employé le sérum de hérisson, soit en nature, soit chauffé;

3. Essais avec des sérums antitoxiques, le sérum antivenimeux, par exemple;

4. Essais avec différents liquides organiques, comme la bile et le liquide hépatique provenant du passage à travers le foie d'une solution de propeptone;

5. Enfin, essais avec quelques substances chimiquement définies, produits de décomposition des matières albuminoïdes, la leucine et la tyrosine.

Quels résultats nous ont donné ces différentes séries d'expériences?

1. *Action du sérum d'anguille chauffé.* — L'action immunisante du sérum chauffé est très faible. Nous avons injecté des doses variant de 0,02 c. c. (dose évidemment trop faible) à 1 c. c. et le sérum normal a été injecté de 1 à 72 h. après. Les deux tableaux suivants donnent le détail de ces expériences; les animaux témoins, auxquels est consacré le second tableau, ont reçu, bien entendu, le même sérum que les cobayes correspondants du premier tableau.

Tableau V. — *Immunisation par le sérum chauffé à 58° durant 15 minutes.*

NUMÉROS	POIDS en grammes et sexe des cobayes	DOSE de sérum chauffé en c.c.	DOSE de sérum normal en c.c.	INTERVALLE séparant les deux injections	RÉSULTATS
1	270 ♂	0,02	0,02	26 heures	Mort en 4 minutes.
2	240 ♀	0,1	0,01	1 —	Mort en 3 jours et demi.
3	225 ♀	0,1	0,01	1 —	Mort en 38 heures.
4	226 ♀	0,1	0,02	5 —	Mort en 8 minutes.
5	220	0,2	0,016	41 —	Mort en 12 minutes.
6	256	0,2	0,016	42 —	Accidents convulsifs graves immédiatement après l'injection. Mort en 44 heures.
7	234 ♂	0,5	0,015	3 jours	Mort en 23 heures.
8	235 ♂	1	0,016	52 heures	Mort en 9 ou 10 minutes.

TABLEAU V bis. — *Animaux témoins des précédents.*

NUMÉROS	POIDS en grammes et sexe des cobayes	COBAYES du tableau précédent auxquels correspondent ces témoins	DOSE de sérum injecté en c.c.	RÉSULTATS
1	240 ♂	1	0,01	Mort en 21 minutes.
2	220 ♀	1	0,01	Mort en 7 minutes.
3	235 ♂	2 et 3	0,02	Mort en 4 min. 30 sec.
4	257 ♀	4	0,01	Mort en 12 ou 15 h. env.
5	240 ♂	5 et 6	0,016	Mort en 6 minutes.
6	254 ♂	7 et 8	0,016	Mort en 3 minutes.

L'expérience n° 1 (du tableau V) ne doit pas entrer en ligne de compte ; il est clair que la dose de sérum chauffé était beaucoup trop faible. Les cas dans lesquels il paraît y avoir eu immunisation relative sont ceux inscrits sous les nos 2, 3, 6 et 7. On peut se demander, il est vrai, si le témoin des nos 2 et 3 (n° 3 du tableau V *bis*) n'aurait pas survécu quelques heures s'il avait reçu seulement 0,01 c. c. de sérum normal au lieu de 0,02 c. c. ; de plus, le n° 2 perd de sa signification, si on le rapproche des nos 3 et 4 du tableau IV (p. 28), pour autant toutefois qu'il est permis de comparer des expériences faites avec des sérums différents (il faut avoir soin, bien entendu, de ne faire porter cette comparaison que sur des sérums à pouvoir toxique analogue) ; sous cette réserve encore, les nos 6 et 7 sont des cas presque identiques au cas n° 2, d'une part, et, d'autre part, au n° 1 de ce même tableau IV.

Mais quand on augmente les doses, et surtout quand on répète à de courts intervalles (un jour ou deux) les injections de sérum chauffé, on obtient une immunisation plus franche. Dans ces cas, alors, comme nous le verrons plus loin, le sérum de ces animaux a acquis la propriété antiglobulicide.

1 *bis*. *Action du sérum neutralisé.* — Le sérum d'anguille est fortement alcalin. A l'idée des analogies qui existent entre ce liquide et les ferments, nous nous étions demandés si, en le neutralisant, on ne supprimerait pas ou tout au moins on ne diminuerait pas son activité, comme on diminue l'activité d'un

ferment, quand celle-ci ne s'exerce qu'en un milieu déterminé, acide ou alcalin. Nous avons donc neutralisé aussi exactement que possible du sérum d'anguille au moyen d'acide chlorhydrique dilué. Voici l'un des résultats obtenus.

Expérience XIV. — Lapin gris de 1.670 gr. Injection, le 16 mai 1897, à midi 1 m., dans une veine de l'oreille, de 0,2 c. c. de sérum neutralisé, dilué dans 1,8 c. c. de chlorure de sodium, et porté à la température de 35° pendant 5 m.; à partir de midi 8 m., accélération respiratoire. Resté en observation durant tout l'après-midi et jusqu'à minuit, il n'a pas présenté d'accidents[1]; bien mieux, il a mangé. Très bien portant les jours suivants[2].

Le 20 mai, à 5 h. 59 min., on injecte à cet animal, dans une veine de l'oreille, 0,2 c. c. de sérum d'anguille normal, dilué dans 1,8 c. c. d'eau salée à 8 p. 1.000 : immédiatement, polypnée, mouvements impulsifs, course irrésistible, mort en 6 min.

Quelques autres essais ne nous ont pas donné de meilleurs résultats.

2. *Action immunisante du sérum de hérisson.* — Il était naturel de rechercher si le sérum du hérisson, animal réfractaire jusqu'à un certain point au sérum d'anguille, n'est pas susceptible d'immuniser contre ce sérum. Cette recherche devait être entreprise d'autant plus que Phisalix et Bertrand (voyez p. 52) ont vu que le sérum de hérisson immunise contre le venin de vipère; ces auteurs font remarquer qu'il importe de chauffer ce sérum à 50°-60°, chauffage qui enlève, en effet, les propriétés toxiques et conserve les propriétés immunisantes. En est-il de même avec le sérum d'anguille? Les expériences suivantes donneront une réponse à cette question.

Expérience XV. — Cobaye ♂ de 590 gr. qui a reçu dans le

1. *Expérience témoin* : Lapin ♀ de 1.860 gr. Injection à midi 9 minutes de 0,2 c. c. du même sérum, normal, dilué dans 1,8 c. c. d'eau salée à 8 p. 1.000; mouvements impulsifs et mort en 4 minutes ou 4 minutes 30 secondes.

2. On peut se demander si l'absence d'accidents chez cet animal n'a pas tenu à ce que le sérum a été légèrement chauffé, à une température, il est vrai très peu élevée, mais suffisante peut-être pour diminuer son activité. N'en verrait-on pas une preuve dans ce fait que, dans d'autres expériences, le sérum neutralisé est resté toxique?

péritoine 8 c. c. de sérum de hérisson préalablement chauffé pendant 15 min. à 58°. 24 h. après, injection dans la veine jugulaire droite de 0,05 c. c. de sérum d'anguille, dilué dans 1 c. c. d'eau salée; mort en 2 min.

Cette dose de sérum d'anguille était trop forte de moitié.

Expérience XVI. — Cobaye de 430 gr. qui a reçu dans le péritoine 7 c. c. de sérum de hérisson chauffé 15 min. à 58°. 24 h. après, injection dans la veine jugulaire droite de 0,2 c. c. de sérum d'anguille, dilué dans 1 c. c. d'eau salée à 8 p. 1.000; agitation, quelques efforts de vomissement; 2 h. plus tard, il paraît normal. Le lendemain, il pèse 335 gr. (n'a pas mangé); ce même jour, il se remet à manger. Le surlendemain matin, on le trouve mourant, paralysé, les pattes très froides.

Un cobaye témoin, du poids de 540 gr., n'a survécu que 24 h. à la même dose. Deux autres témoins, l'un de 440 gr. et l'autre de 445 gr., sont morts, après la même injection, le premier en 40 min. et le second en 20 min.

Malheureusement, ce genre d'expériences exige de grandes quantités de sérum de hérisson. Or, cet animal ne fournit pas beaucoup de sang et, d'autre part, nous n'avions à notre disposition qu'un nombre restreint d'animaux. C'est pourquoi nous avons été amenés à essayer d'autres procédés d'immunisation. Nous avons d'abord employé le mélange des deux sérums.

Expérience XVII. — Hérisson ♀; le sang carotidien est reçu dans des tubes stérilisés; le lendemain, on recueille aseptiquement le sérum qui s'est formé. Ce sérum est chauffé 15 min. à 57°-59°; on attend le refroidissement et on le mélange à du sérum d'anguille, dans la proportion de 1 c. c. de sérum de hérisson pour 0,1 du second sérum. Les deux liquides sont laissés en contact pendant 5 à 6 min., et le mélange est injecté à deux cobayes :

Cobaye n° 1, ♀ de 475 gr. Injection dans la veine jugulaire droite de 0,7 c. c. de ce mélange; l'injection dure 2 min.; 1 minute et demie après, l'animal meurt;

Cobaye n° 2, ♀ de 450 gr. Même injection, mais de 0,5 c. c. seulement de mélange, en 1 minute et demie; mort après 2 min.

— Dans ce second cas, le sérum d'anguille était resté en contact 4 h. 15 min. avec le sérum de hérisson.

Ces expériences ne sont pas décisives, la quantité de sérum d'anguille contenue dans le mélange étant vraisemblablement trop forte. Il conviendrait de les répéter en employant de plus grandes quantités de sérum de hérisson pour de moindres doses du sérum toxique.

Nous avons eu recours encore à un autre procédé, l'injection dans le péritoine tous les jours ou tous les deux jours, durant 10 à 12 jours, de petites quantités (0,2 c. c. ou 0,3 c. c. au début jusqu'à 2 c. c. à la fin) de sérum de hérisson normal (non chauffé). Les injections étaient faites naturellement avec toutes les précautions habituelles d'asepsie. Dans ces essais, nous avons d'abord perdu deux cobayes qui peu à peu avaient dépéri ; leur température était tombée à 29° ou 30°. Mais d'autres ont mieux résisté aux injections préventives de sérum de hérisson, de telle sorte que nous avons pu réaliser l'expérience projetée.

Expérience XVIII. — Deux cobayes mâles, A de 480 gr. et B de 450 gr., reçoivent dans le péritoine 0,7 c. c. de sérum de hérisson, dilué dans 1 c. c. d'eau salée, le 13 décembre 1897 ;

Le 15, injection de 1,2 c. c. ;

Le 17, injection de 1,2 c. c. ;

Le 18, injection de 2 c. c. dilués dans 1 c. c. d'eau salée ;

Le 22, A pèse 510 gr. et B 432 gr. ;

Le 23, A reçoit dans la veine jugulaire droite 0,44 c. c. de de sérum d'anguille, dilués dans 1 c. c. d'eau salée ; il meurt en 3 min.

La dose d'ichtyotoxique paraît avoir été trop forte (d'après tout ce que nous ont appris nos expériences, une fois trop forte). Il se peut, en effet, que l'animal soit immunisé pour la dose simplement mortelle, et non pour une dose double de celle-ci.

Le 24 décembre, B reçoit encore dans le péritoine 3 c. c. de sang de hérisson ;

Le 29, injection de 4 c. c. de sérum de hérisson ;

Le 30, à 9 h. du matin, on le trouve mort ; encore un peu chaud.

Faute d'animaux, nous avons dû abandonner ces essais.

On voit que le procédé d'immunisation qui nous a donné le meilleur résultat (voyez expérience XVI) est celui qui a été préconisé par Phisalix et Bertrand, injection intra-péritonéale d'une assez grande quantité de sérum chauffé. Mais rien ne prouve que les deux autres, injection d'un mélange des deux sérums et injections de petites quantités croissantes de sérum normal de hérisson. ne fourniraient pas aussi des résultats positifs; car, dans les quelques expériences que nous avons faites suivant ces deux procédés, nous avons employé des doses trop fortes de sérum toxique. Or, l'immunisation, on le sait, n'est pas quelque chose d'absolu; tel animal, immunisé pour une dose donnée de toxine, ne résistera pas à une dose plus élevée. D'ailleurs, d'une façon générale, l'action immunisante du sérum de hérisson n'est pas très intense, d'après les expériences de Phisalix et Bertrand sur le venin de vipère (*loc. cit.*) et d'après celles de Calmette (*loc. cit.*) sur le venin de serpents (mélange de venin de *Naja tripudians*, de *Bothrops lanceolatus* et de *Crotales* d'origines diverses) et sur l'abrine[1]. S'il est permis de conclure de ces faits à l'action du même sérum sur l'ichtyotoxique, on admettra que cette action peut ne pas être très énergique non plus, et par suite, que, pour éprouver les animaux supposés immunisés, il convient de ne pas leur injecter de trop fortes doses d'ichtyotoxique.

3. *Action immunisante du sérum antivenimeux.* — Les sérums ayant acquis des propriétés antitoxiques ne seraient-ils pas doués du pouvoir d'immuniser contre le sérum d'anguille ? C'est assurément le sérum antivenimeux qui paraissait *a priori* devoir être employé avec le plus de succès dans ce but, et c'est d'ailleurs le seul que nous ayons utilisé. Nous devons à l'obligeance de M. Calmette, directeur de l'Institut Pasteur de Lille,

1. Calmette (Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. IX, p. 225-251, 1895) et Calmette et Deléarde (Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les sérums antitoxiques. *Ibidem*, t. X, p. 675-707, 1896) ont constaté également que le sérum du Mangouste, animal naturellement réfractaire aux venins de serpents, ne possède que de faibles propriétés antitoxiques et préventives vis-à-vis de ces venins.

le sérum antivenimeux qui nous a servi; c'est du sérum de cheval immunisé contre un mélange de trois venins, de *Cobra capel*, de *Bothrops lanceolatus* et d'*Echis carinata*. Nous n'avons d'ailleurs fait avec ce sérum qu'un petit nombre d'expériences.

Expérience XIX. — Lapin ♀ de 4.110 gr. ayant reçu en injection intra-veineuse 6 c. c. de sérum antivenimeux en 6 jours, soit 2 c. c. tous les deux jours; 6 jours après reçoit encore 5 c. c. du même sérum (il pèse alors 4.000 gr.), Une demi-heure après, injection intra-veineuse de 0,3 c. c. de sérum d'anguille dilué dans 3 c. c. d'eau salée : myosis, exophtalmie, dyspnée, salivation, paralysie, vaso-constriction auriculaire, convulsions et mort au bout de 21 min.

Expérience XX. — Cobaye ♂ de 280 gr. qui reçoit 2 c. c. de sérum antivenimeux dans la veine jugulaire droite, et 1 h. 50 min. après, 0,013 c. c. de sérum d'anguille. Survie.

Expérience XXI. — Cobaye ♀ de 225 gr. qui reçoit dans la veine jugulaire droite 3 c. c. de sérum antivenimeux. 3 heures après, injection dans la même veine de 0,01 c. c. de sérum d'anguille. Mort après 3 jours.

Ces expériences doivent être considérées comme insuffisantes pour juger la question de savoir si le sérum antivenimeux peut immuniser contre l'ichtyotoxique. Elles montrent en tout cas qu'il peut y avoir quelquefois immunisation. Wehrmann d'ailleurs, dans le laboratoire de Calmette, a prouvé la réalité de ce pouvoir préventif[1].

1. L'étude des effets d'un autre liquide organique, la bile, s'offrait aussi. C'est Fraser (*Brit. med. Journ.*, 17 juillet 1897) qui a constaté le premier que la bile possède des propriétés antitoxiques vis-à-vis du venin des serpents. Un peu plus tard, Wehrmann (Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XI, p. 810-828, 1897), dans le laboratoire de Calmette, constata que la bile de bœuf neutralise *in vitro* non seulement le venin de vipère, mais aussi le sérum d'anguille; elle ne possèderait ni pouvoir préventif ni pouvoir curatif. Phisalix, à son tour (La cholestérine et les sels biliaires vaccins chimiques du venin de vipère. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 11 décembre 1897, p. 1057), a reconnu qu'un mélange de bile de vipère et de venin est inoffensif et, d'autre part, que cette même bile a des propriétés vaccinantes vis-à-vis du venin, puis, comme suffit à l'indiquer le titre de sa note, il s'est attaché à déterminer quelles sont dans la bile les substances douées de ces propriétés.

Pour nous, nous n'avons étudié que l'influence de la bile sur l'action globulicide du sérum d'anguille (voyez p. 41).

On trouvera plus loin les résultats de nos recherches concernant l'influence du sérum antivenimeux sur l'action globulicide du sérum d'anguille.

4. *Action du plasma hépatique de propeptone* (*antiplasmasme*). — Au cours des recherches que nous avons faites dans ces dernières années sur l'action de la propeptone sur la coagulabilité du sang[1], nous avons eu maintes fois l'occasion de remarquer que les plasmas obtenus à la suite d'une injection de cette substance ne sont jamais colorés par de l'hémoglobine dissoute. De là, après que nous eûmes étudié l'action globulicide du sérum d'anguille, l'idée de rechercher si cette action ne serait pas empêchée par le liquide qui s'écoule des veines sus-hépatiques après passage dans le foie d'une solution de propeptone[2]. En raison de son action supposée sur le ferment coagulateur du sang, la plasmase, et pour simplifier, nous appelons ce liquide *antiplasmase*. Nous dirons plus loin un mot de ces essais.

Nous avons aussi cherché si l'action toxique générale du sérum d'anguille ne serait pas supprimée ou diminuée par l'antiplasmase. Le résultat de nos expériences peut être résumé dans le tableau suivant :

TABLEAU VI.

NUMÉROS	ANIMAUX poids en grammes et sexe	DOSE d'antiplasmase en c.c.	DOSE de sérum d'anguille en c.c.	INTERVALLE séparant les 2 injections	RÉSULTATS
1	Lapin 1500 ♀	3	0,4	1 heure.	Survie.
2	— 1330 ♂	3	0,3	1 minute.	Mort en 4 minutes.
3	Cobaye 590 ♂	3	0,07	2 h. 15.	Mort en 2 h. environ.
4	— 670 ♂	6 dans le péritoine	0,18	30 minutes.	Mort en qq. heures.
5	— 515 ♂	6 — —	0,03	22 heures.	Mort en 2 minutes.
6	— 500 ♂	2	0,04	6 minutes.	Id.
7	— 520 ♂	2	0,1	30 minutes.	Mort en 4 minutes.
8	— 580 ♀	2	0,05	30 minutes.	Id.
9	— 415 ♂	1,8	0,03	3 heures.	Mort en 3 minutes.
10	— 480 ♂	2	0,07	19 heures.	Mort en 1 minute.

1. Voyez p. 20 l'indication de quelques travaux de Gley et Pachon et de Gley sur cette question; voyez aussi L. Camus et E. Gley, *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1896 et 1898.

2. C. Delezenne : Formation d'une substance anticoagulante par circulation artificielle de peptone à travers le foie. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. VIII, p. 655-668, 1896.

Quelques-uns de ces résultats (voyez nos 1, 3 et 4) montrent, ce semble, que l'antiplasmase, injectée dans le sang 1 ou 2 h. environ avant le sérum d'anguille, protège les lapins ou les cobayes contre une dose mortelle de ce liquide. Si ce dernier est injecté quelques minutes ou plusieurs heures (10 à 20) après l'antiplasmase, l'action préventive de cette substance ne paraît pas pouvoir se produire. Il convient de remarquer, il est vrai, que très souvent, dans nos expériences, les doses de sérum ont été trop élevées ; c'est ce qui est certainement arrivé pour les nos 7, 8, 10 et même 9 ; la dose injectée au n° 3 était également beaucoup trop forte et il est très vraisemblable que cet animal eût survécu, s'il avait reçu simplement la dose mortelle ou une dose seulement un peu supérieure.

Si on mélange le sérum et l'antiplasmase et qu'on injecte une quantité déterminée de ce mélange, on n'obtient aucune atténuation des effets toxiques du sérum ; l'antiplasmase n'exerce donc aucune action neutralisante *in vitro*.

Il nous semble que ces essais mériteraient d'être repris. Leur intérêt d'ailleurs n'augmente-t-il pas si on les rapproche des expériences de E. Freund et S. Grosz sur l'action neutralisante et préventive des albumoses ou de l'histone sur les toxines diphtérique et tétanique et de celles de Bosc et Delezenne sur l'action immunisante d'une injection intra-veineuse de propeptone ou d'extrait de sangsue contre les effets des cultures virulentes de streptocoques ou de coli-bacilles[1] ?

5. *Action de la leucine et de la tyrosine.* — Nous avons déjà indiqué (voyez p. 40) pour quelles raisons nous avions recherché si la leucine et la tyrosine n'empêchent pas l'action globulicide du sérum d'anguille. De même, nous avons voulu voir si, au moyen de ces substances, on ne réussirait pas à immuniser

1. E. Freund et S. Grosz : Ueber die Beziehungen von Albumosen zur passiven Immunisirung. *Centralbl. f. inn. Med.*, t. XVII, S. 497, 9 mai 1896, Communication à la Soc. des médecins de Vienne, mars 1896 ; voir aussi un travail antérieur des mêmes auteurs (*Centralbl. f. inn. Med.*, t. XVI, S. 913, 1895, n° 38) concernant l'action *in vitro* de la nucléo-histone et de l'acide nucléinique sur la toxine et l'antitoxine diphtériques ; — Bosc et Delezenne : De l'imputrescibilité du sang rendu incoagulable par l'extrait de sangsue et de l'immunité conférée par quelques substances anticoagulantes. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 14 septem-

contre l'action toxique du sérum. Les résultats que nous avons obtenus sont ou bien négatifs ou bien trop peu précis pour qu'il soit possible d'en tirer une conclusion sûre; tels qu'ils sont cependant, nous les présentons dans le tableau VII.

TABLEAU VII.

NUMÉROS	ANIMAUX Poids en gr. et sexe	DOSE de leucine, L ou de tyrosine, T en gr.	DOSE de sérum d'anguille en c.c.	INTERVALLE séparant les deux injections	RÉSULTATS
	Lapins :				
1	2195	0,001 T	0,2	0 (1)	Mort en 5 minutes.
2	2300	0,0005 T (2)	0,3	10 minutes.	Mort en 18 heures env.
3	1500	0,0005 T (2)	0,2	24 —	Mort en 4 minutes.
4	1765 ♀	0,001 T	0,2	16 —	Mort en 2 min. 30 sec.
5	1720 ♀	0,001 T	0,2	0 (3)	Mort en quelques h.
6	2160	5 c.c. d'une solution saturée à chaud d'un mélange L et T.	0,3	0	Mort en 16 minutes.
	Cobayes :				
7	410 ♂	0,01 T	0,04	50 minutes.	Mort en 5 minutes.
8	408 ♂	0,01 T	0,02	1 heure.	Mort en 13 h. 10 min.
9	410 ♀	0,01 T	0,03	23 heures.	Mort en 30 minutes.
10	280 ♂	0,01 dans le péritoine.	0,2 dans le péritoine.	2 jours.	Mort en 5 h. 30 min.
11	270 ♀	—	—	—	Survie (4).
12	262 ♂	—	—	—	Survie (4).

On sait que la leucine et la tyrosine sont très peu solubles dans l'eau, mais plus solubles dans l'eau bouillante (1 pour 150). Or, l'injection de quelques centimètres cubes d'eau à 95° dans

bre 1896. — La question d'ailleurs peut être considérée comme ayant été déjà posée par les recherches de Wooldridge (*Proc. of the Royal Soc.*, 1887, p. 312; *Archiv f. Anat. und Physiol.*, physiol. Abth., 1888, S. 174, 527) et de Wright (*Brit. med. Journ.*, 1891, t. II, p. 641) sur l'action du *fibrinogène des tissus* (on sait que ce que Wooldridge a appelé ainsi peut être identifié à la nucléo-histone) sur le charbon. — A la vérité, F. G. Novy (The immunizing power of nucleohiston and histon. *The Journ. of exper. Med.*, t. I, p. 693-716, 1896) a fait une critique expérimentale très soignée des expériences de Freund et Grosz, aussi bien que des recherches plus anciennes de Wooldridge et de Wright.

1. Dans ce cas, la tyrosine avait été triturée avec le sérum d'anguille et c'est ce mélange qui fut injecté.

2. La substance avait été triturée dans 5 c.c. de sérum de chien.

3. Dans ce cas, on injecte le mélange de tyrosine et de sérum d'anguille, les deux substances étant restées en contact pendant 15 min. à la température du laboratoire (15°).

4. Deux témoins de même poids, ayant semblablement reçu dans le péritoine la même dose du même sérum, ont é alement survécu.

une veine paraît être sans danger[1]. Beaucoup de nos injections ont été faites de cette manière; nous aurons soin de mentionner les cas où il aura été procédé autrement.

Il est apparemment difficile de rien conclure de ces expériences. Passons en effet rapidement en revue leurs résultats. Le lapin n° 2 n'a certainement pas été préservé parce que la dose de 0,3 c. c., pour cet animal qui pesait 2.300 gr., est une dose rarement mortelle d'emblée, en quelques minutes. Les deux autres animaux, que l'on pourrait considérer comme ayant été quelque peu immunisés, sont les n°s 5 (lapin) et 8 (cobaye), mais il faut compter, dans ce genre d'expériences, avec les résistances individuelles, cause d'erreur qu'il n'est permis d'éliminer que par un grand nombre d'observations; de plus, nous devons remarquer que le cobaye (n° 8), immédiatement après l'injection, a présenté de graves accidents (convulsions, dyspnée, polypnée, puis ralentissement progressif de la respiration) e que ces accidents n'ont pas cessé jusqu'à la mort.

De ce que les injections de tyrosine nous ont paru n'exercer aucune action préventive contre le sérum d'anguille, il ne s'ensuit pas qu'elles ne puissent immuniser contre les effets d'autres toxines. C'est ainsi que Phisalix[2] a vu qu'une injection sous-cutanée de tyrosine, à la dose de 5 à 20 milligr., en suspension dans l'eau (l'auteur fait un mélange à 1 p. 100), préserve le cobaye contre une dose de venin de vipère mortelle en 5 à 6 h. pour les témoins[3].

2° Immunisation contre l'action globulicide.

Quand on injecte à un lapin immunisé contre le sérum d'anguille une dose mortelle de ce sérum, non seulement l'animal

1. Athanasiu et Carvallo : La résistance des animaux homéothermes aux injections très chaudes intra-veineuses. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 17 juin 1897, p. 590; L'action des hautes températures sur le cœur *in vivo*. *Arch. de Physiol.*, 5e série, t. IX, p. 788-801, 1897.

2. C. Phisalix : La tyrosine, vaccin chimique du venin de vipère. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 5 février 1898, p. 153.

3. Nous avons cependant, de notre côté, éprouvé sans succès le pouvoir immunisant de la tyrosine contre un venin de serpent qui nous a été très obli-

survit, mais on s'aperçoit que ses globules rouges ne sont plus détruits.

La découverte de ce dernier fait[1] nous a conduits à entreprendre l'étude du problème de l'immunité par ce côté très particulier, la résistance d'un élément anatomique à une action toxique bien déterminée. Nous avons pensé qu'il y avait là un moyen sûr et précis, en même temps certes que très simple et commode à mettre en œuvre, de saisir quelques-unes au moins des conditions et peut-être même des causes de l'immunité. Le phénomène dont il s'agit de déterminer la nature et, si possible, les causes, est en effet d'une constatation des plus faciles ; observé à volonté sur l'animal vivant, il peut être reproduit de la façon la plus aisée *in vitro* et ainsi étudié avec une grande précision ; l'action toxique en jeu, l'action globulicide, ne porte que sur un seul élément anatomique, le globule rouge ; il en va conséquemment de même pour l'action antitoxique. Par là le problème de l'immunité se trouve soumis à l'analyse dans des conditions de simplicité rarement réalisées.

geamment envoyé par M. Calmette (voyez plus haut, p. 62). Dans la séance de la Société de Biologie où Phisalix a présenté les résultats de ses expériences sur les effets vaccinants de la tyrosine, nous avons été amenés à dire quelques mots de nos propres et infructueux essais dans la même voie. Notre collègue a remarqué, avec raison certainement, que tous les venins ne sont pas identiques, que toutes ses expériences avaient été faites avec le venin de vipère exclusivement, tandis que les nôtres l'avaient été avec un mélange de trois venins. Nous ne prétendons donc pas infirmer, à l'aide des quelques expériences que nous avons faites, les observations de Phisalix.

Nous n'avons pas poursuivi nos essais, la question dont il s'agit s'écartant de notre étude spéciale. Récemment, Calmette (Sur le mécanisme de l'immunisation contre les venins. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XII, p. 343-348, 1898) a fait observer que, dans les expériences sur les propriétés vaccinantes de la bile, de la cholestérine, etc., il importe d'éprouver les animaux « avec des doses de venin sûrement mortelles en 2-3 heures, car si on n'injecte que des doses mortelles en 5-6 heures, comme le fait M. Phisalix, on trouve environ quatre cobayes, sur dix de même poids, qui survivent après avoir été plus ou moins malades, et sans injection préventive de bile ». Ajoutons pourtant que Calmette reconnaît lui-même quelque propriété préventive à la bile, à la cholestérine, etc., vis-à-vis du venin ; mais il ne s'agirait point là, d'après lui, d'une action spécifique; d'autres corps, le bouillon normal frais, par exemple, divers sérums, se comportent de même. « On a tout simplement affaire ici à des effets de stimulation cellulaire, mais ces effets sont très passagers et peuvent être produits par des substances très différentes » (Calmette, *loc. cit.*, p. 347).

1. L. Camus et E. Gley : De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVI, p. 428, 31 janvier 1898.

Il est juste de rappeler ici que déjà la pathologie générale a été engagée dans cette voie par les belles expériences de Ehrlich relatives à l'action *in vitro* d'une toxine végétale, la ricine, sur la coagulabilité du sang [1] et à l'action contraire du sérum des animaux immunisés contre la ricine [2]. Ehrlich a montré qu'une quantité donnée d'une solution de ricine qui amène la coagulation rapide (agglutination) de quelques centimètres cubes de sang citraté, ne produit plus son effet quand on l'a mélangée avec une quantité proportionnelle de sérum de chien immunisé contre la ricine (*Antiricinserum*). Il était ainsi établi pour la première fois qu'une toxine et une antitoxine peuvent agir directement l'une sur l'autre. De ces expériences, l'auteur conclut que ces deux substances se neutralisent chimiquement.

Les recherches que nous avons à exposer maintenant sont tout à fait du même genre ; elles fournissent, comme celles d'Ehrlich, la preuve directe, au moyen d'une expérience facile *in vitro*, de la présence d'une antitoxine dans le sang d'animaux immunisés, et, d'autre part, comme on le verra plus loin, elles permettent de déterminer le mécanisme de l'immunisation. Très peu de temps après notre première publication sur cette question, parut un intéressant travail de H. Kossel, qui avait de son côté conçu et réalisé d'une manière indépendante la même expérience [3] ; comme nous, il a vu que le sérum d'anguille ne détruit plus les hématies du sang de lapin quand il a été additionné *in vitro* d'une quantité suffisante de sérum d'un animal immunisé contre l'ichtyotoxique ; dans ses expériences, il fait varier les quantités de sérum antitoxique, la dose de sérum d'anguille restant la même ; nous avons fait, au contraire, varier les doses de ce dernier, en employant toujours la même quantité de sérum

1. C'est Kobert qui a montré que la ricine produit dans le sang *in vitro*, même dans le sang circulant, une *coagulation spéciale* [agglutination des globules] (voyez H. Stillmark : Ueber Ricin. *Arbeiten des pharmak. Instituts zu Dorpat*, t. III, S. 59-151, 1889).

2. P. Ehrlich : Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. *Fortschritte der Medicin*, 15 janvier 1897. Les travaux de Ehrlich sur l'immunisation contre la ricine et contre l'abrine sont plus anciens (Exper. Unters. über Immunität, I. Ueber Abrin. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1891, S. 976-1218).

3. H. Kossel : Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung. *Berl. klin. Wochenschr.*, 14 février 1898.

immunisant; dans les deux cas, la constatation a été la même, à savoir qu'il y a proportion simple entre les doses de toxine et d'antitoxine nécessaires pour que la neutralisation de l'une par l'autre ait lieu. « Es ist mir also gelungen, dit H. Kossel, in ähnlicher Weise wie Ehrlich, für ein zweites Gift zu zeigen, dass Antitoxin und Toxin sich im Reagensglase binden können. » C'est la même démonstration que nous avons donnée.

D'autre part, à peu près en même temps encore, J. W. W. Stephens et W. Myers[1] ont montré que le venin de cobra exerce une action dissolvante sur les hématies et que cette action est empêchée par des quantités fixes de sérum antivenimeux ; ainsi, l'effet de 0,1 milligr. de venin est supprimé par 0,1 c. c. de sérum ; et ces auteurs, à leur tour, concluent de leurs expériences que la mesure de la neutralisation du venin *in vitro* par le sérum antivenimeux est, d'une façon générale, la mesure de la neutralisation *in vivo* (chez le cobaye) et que cette neutralisation est un phénomène d'ordre chimique et non cellulaire[2].

Voilà donc en un court laps de temps une série d'observations concordantes, réalisées indépendamment les unes des autres, dont la signification paraît bien être la même.

1. *Étude du phénomène et de ses conditions.* — Voyons maintenant dans ses détails le phénomène que nous voulons étudier.

Expérience XXII. — Deux lapins albinos de la même portée, âgés de 2 à 3 mois, et pesant, l'un (A ♀) 1.430 gr., l'autre (B ♂) 1.360 gr., reçoivent dans une veine de l'oreille 0,05 c. c. de sérum d'anguille, dilué dans 0,5 c. c. d'eau salée à 8 °/₀₀. On remarque après l'injection du myosis et un peu d'abattement.

Trois jours après, même injection. Pas de myosis.

Six jours après, même injection.

1. J. W. W. Stephens and W. Myers : Test-tube reactions between Cobra poison and its antitoxin. *Brit. med. Journ.*, 5 mars 1898. — Calmette (*Le venin des serpents. Physiol. de l'envenimation*, Paris, 1896) dit très brièvement que pendant l'envenimation, sur beaucoup d'animaux, il a remarqué que « les hématies se gonflaient un peu et que l'hémoglobine se dissolvait rapidement » (p. 23).

2. Dans notre note à l'Académie des Sciences du 31 janvier 1898, nous avions annoncé que nous avions en voie d'exécution des expériences sur l'action hémolytique des venins de Serpents. Après la publication de l'intéressant travail de Stephens et Myers, nous n'avons pas continué ces recherches.

Huit jours après, injection de 0,075 c. c.

A pèse à ce moment 1.550 gr. et B 1.519. Ils ne paraissent donc pas avoir souffert. — On continue les injections :

Dix jours après, injection de 0,1 c. c.

Treize jours après, injection de 0,1 c. c.

Le quatorzième jour, A pèse 1.450 gr. et B 1.270 gr. Ce dernier a, depuis 24 heures, un peu de diarrhée, ce qui peut expliquer en partie sa perte de poids. On pratique sur ces deux animaux une saignée carotidienne ; B est sacrifié par hémorragie.

Pour éprouver la résistance de A, on lui fait une injection intra-veineuse de 0,4 c. c. de sérum d'anguille, c'est-à-dire d'une dose mortelle à coup sûr (dose double de la dose mortelle). On ne constate aucun symptôme d'empoisonnement. Le lendemain, un peu d'abattement peut-être ; sauf cela, apparence normale. Il est donc bien immunisé.

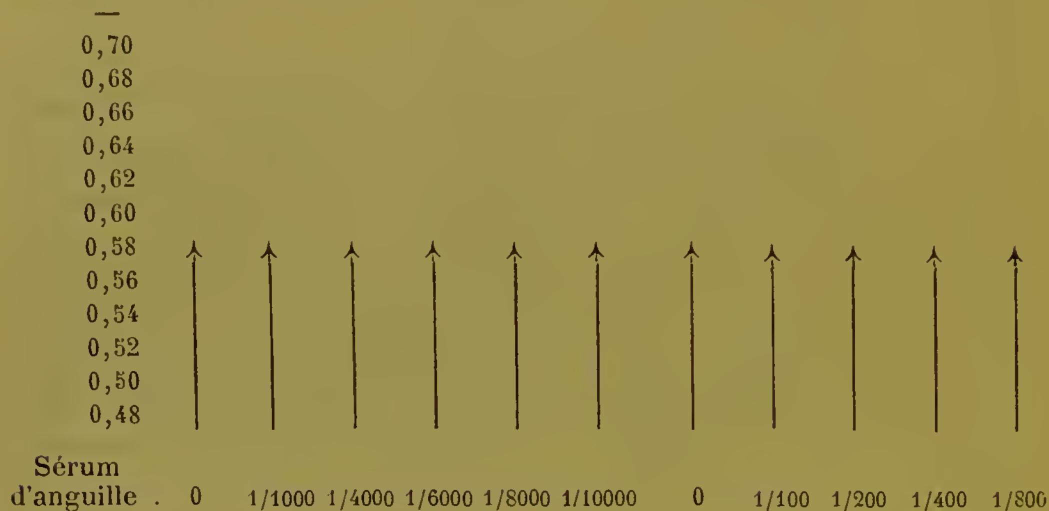
Or, du sang artériel de ces deux animaux, mis à centrifuger, a fourni un sérum clair, non coloré en rouge, contrairement à ce qui se passe chez les animaux qui reçoivent pour la première fois du sérum d'anguille. De plus, *in vitro*, on peut aisément constater, à l'aide de la méthode de Hamburger, que les globules de ces animaux immunisés résistent à l'action destructive du sérum d'anguille. Enfin leur sérum sanguin ou leur plasma protège les globules du sang d'un autre animal, non immunisé, contre l'action globulicide du sérum d'anguille. Ces faits constituent trois preuves concordantes de l'état réfractaire acquis par les animaux dont il s'agit.

Il nous paraît inutile de rapporter ici toutes les expériences, semblables à celles-ci, que nous avons faites. Il sera préférable sans doute de représenter quelques-unes de ces expériences par des courbes analogues à celles que l'on a déjà vues dans ce travail.

Voici d'abord deux graphiques qui montrent que les globules rouges du lapin immunisé ne laissent plus diffuser leur hémoglobine sous l'influence du sérum d'anguille, mais ont acquis une résistance spécifique, identique à celle des globules du hérisson, c'est-à-dire d'un animal pourvu de l'immunité naturelle.

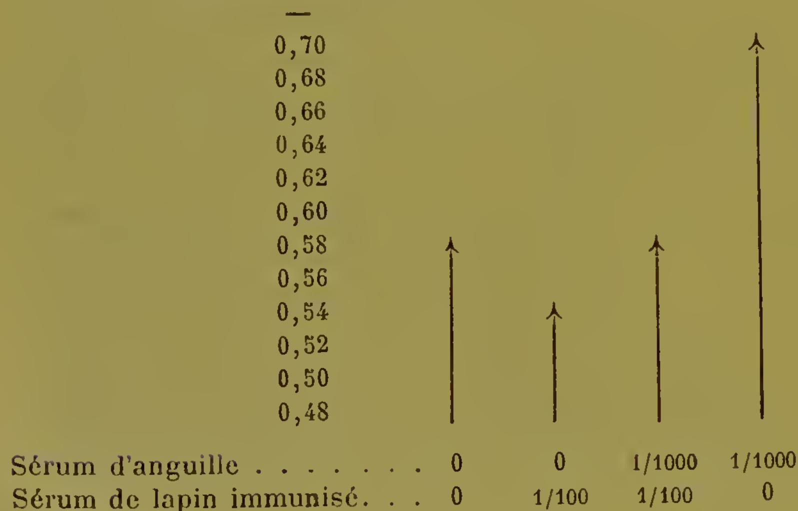
Courbe n° 9. — *Lapin* de 1.510 gr. immunisé.

Courbe n° 9bis. — *Lapin* de 1.620 gr. immunisé.



D'autre part, les courbes suivantes montrent que le sérum d'un animal immunisé empêche *in vitro* l'action dissolvante du sérum d'anguille sur les globules rouges (voyez courbes 10 et 11).

Courbe n° 10. — *Lapin* ♂, 4 kgr.



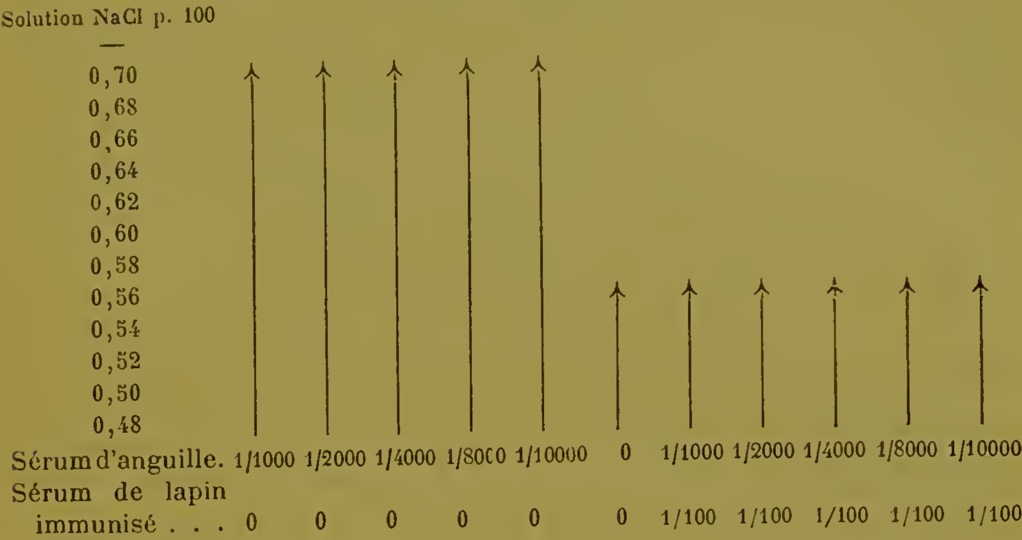
Sérum d'anguille 0 0 1/1000 1/1000

Sérum de lapin immunisé. . . 0 1/100 1/100 0

Bien entendu, la contre-épreuve, c'est-à-dire l'expérience consistant à ajouter à l'ichtyotoxique, au lieu de sérum d'immu-

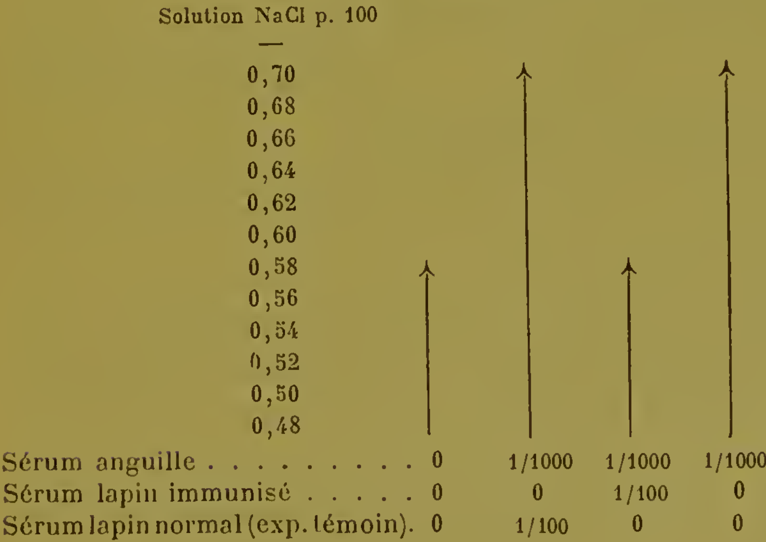
nisé, une égale quantité de sérum d'un animal normal, ne donne qu'un résultat négatif : le sérum d'anguille conserve,

Courbe n° 11. — *Lapin* albinos ♀, 4 kgr.



dans cette condition, tout son pouvoir globulicide, comme on peut le voir sur la courbe n° 12.

Courbe n° 12. — *Lapin* albinos ♀, 4 kgr.

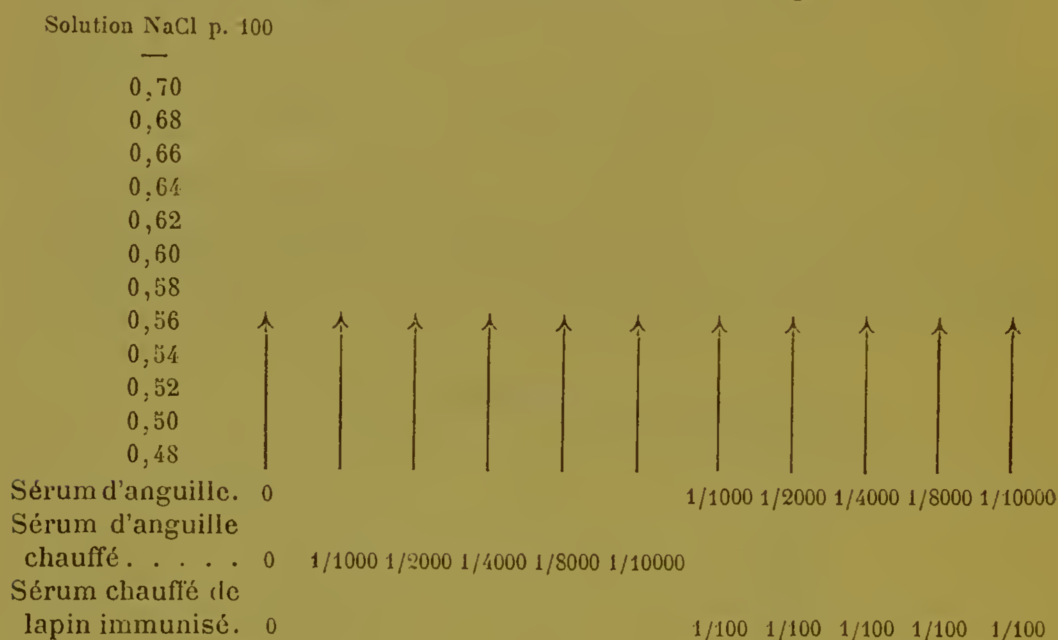


Quand la quantité injectée de sérum d'anguille a été trop faible (doses insuffisamment répétées), la réaction de l'organisme qui conduit à l'état réfractaire n'a pas lieu ; ni les globules

des animaux ne deviennent résistants, ni leur sérum ne devient antiglobulicide.

Le sérum des animaux immunisés présente ce caractère remarquable de pouvoir être chauffé à 58° pendant 15 min. et plus, sans perdre la propriété spécifique qu'il a acquise. Il se comporte donc vis-à-vis de la chaleur d'une manière absolument différente du sérum d'anguille ; ce dernier, on se le rappelle (voyez p. 42), chauffé à 58° pendant un quart d'heure, cesse d'être globulicide. Il y a là un caractère différentiel que nous utiliserons plus loin. La courbe n° 13 montre nettement ces deux faits.

Courbe n° 13. — *Lapin* albinos ♀, 4 kgr.



2. *Conséquences du phénomène.* — Les deux principaux résultats de ces expériences sont très clairs. En premier lieu, le sang des animaux immunisés a acquis une résistance extraordinaire au sérum d'anguille. Le sang d'un animal très sensible à l'action de ce sérum, le lapin, par exemple, devient à cet égard comparable à celui d'un animal naturellement réfractaire, comme le hérisson. La question est maintenant de savoir si cette résistance naturelle des globules rouges du hérisson et la résistance acquise des globules de ces lapins tiennent à une propriété des globules eux-mêmes ou à quelque substance du plasma sanguin

qui agirait comme antagoniste du sérum d'anguille. C'est ce que nous examinerons plus loin.

Le second résultat sur lequel nous insistons, c'est que le sérum des animaux immunisés empêche l'action globulicide du sérum d'anguille. Par le fait de l'immunisation, le sérum sanguin a donc acquis une propriété nouvelle.

Ici se posent quelques questions intéressantes. On peut se demander comment le sérum des animaux immunisés acquiert la propriété antitoxique et, d'autre part, en quoi consiste cette dernière, si elle est d'ordre chimique ou physiologique. L'importance est grande de ces questions, au point de vue de la doctrine de l'immunité.

3. *Formation de la substance antiglobulicide dans l'organisme*; *conditions de cette formation.* — Comment le sérum devient-il antiglobulicide ? Il nous a semblé qu'il y a au moins deux manières d'aborder ce problème. On peut d'abord se demander si, en immunisant des animaux contre une substance globulicide, quelle qu'elle soit, on ne les rendrait pas *ipso facto* réfractaires à l'action globulicide du sérum d'anguille. Il y avait là une généralisation qui, si elle eût été vérifiée par l'expérience, n'eût pas manqué d'être intéressante. C'est dans cette idée que nous avons essayé d'immuniser des lapins contre l'ichtyotoxique au moyen de sérum de chien. Ces essais nous ont donné des résultats négatifs. Il est, pour cette raison, sans intérêt, croyons-nous, de relater les protocoles de ces expériences et de présenter les courbes qu'elles nous ont fournies. Semblablement, les globules de ces animaux n'avaient point acquis de résistance au sérum d'anguille et leur sérum sanguin ne manifestait aucune propriété antitoxique vis-à-vis de celui de l'anguille.

Nous nous sommes alors demandé si le fait seul de la mise en liberté de l'hémoglobine dans le sang ne suffirait pas à rendre les globules plus résistants. Nous avons cherché dans ce but quel serait l'effet d'injections, répétées à divers intervalles, de solutions d'hémoglobine; nous avons employé du sang de lapin laqué. Ces expériences ont été négatives comme les précédentes. Toutefois, nous avons remarqué que les globules d'un animal

(lapin) qui avait reçu plusieurs injections de sang laqué (20 c. c. en 4 jours), avaient acquis une légère résistance au sérum d'anguille; ils ne laissaient plus diffuser leur hémoglobine dans la solution à 1/6.000

De tout ce qui précède faut-il conclure que, pour que l'organisme puisse être mis en état de produire une antitoxine donnée, il est nécessaire qu'il ait préalablement reçu la toxine correspondante? Cette conclusion est infirmée par notre seconde série d'expériences.

On pouvait, en effet, penser que, en préservant des animaux contre l'action toxique générale du sérum d'anguille, on rendrait leurs globules réfractaires à l'action dissolvante si intense de ce liquide. Mais on a vu (p. 56-67) que ces essais d'immunisation n'avaient pas été très heureux. De même, au point de vue spécial auquel nous sommes maintenant placés, aucun des liquides que nous employions dans ce but n'a manifesté de propriété antiglobulicide, ni le sérum d'anguille chauffé, ni le sérum de hérisson, chauffé ou non, ni le sérum antivenimeux, ni l'antiplasmase, ni les solutions de leucine ou de tyrosine. — Seul, le sérum d'animaux ayant reçu du sérum d'anguille chauffé nous a donné des résultats positifs. Pour que le sang des animaux que l'on veut immuniser par ce procédé devienne antitoxique, il est nécessaire que l'on injecte à ces animaux pendant assez longtemps d'assez grandes quantités de sérum chauffé. Le sérum d'un animal (lapin ou cobaye) qui n'a reçu que 1 ou 2 c. c. de sérum chauffé ne manifeste pas de propriété antiglobulicide. Voici au contraire un lapin (♂ de 1.529 gr.) qui a reçu en 9 jours 4,9 c. c. de sérum chauffé; une saignée carotidienne, faite à cet animal deux jours après la dernière injection, a fourni un sérum nettement antitoxique; on peut en juger par la courbe n° 14, p. 77. On voit par cette expérience qu'une dilution de ce sérum à 1/100, que celui-ci ait été ou non chauffé (le chauffage, comme nous l'avons déjà dit, ne détruit pas l'antitoxine), neutralise l'action d'une dilution de sérum d'anguille à 1/2.000, mais ne peut détruire l'effet d'une dilution à 1/1.000. Ce dernier résultat est intéressant à rapprocher du fait que l'on constate sur les

courbes n°s 11 et 12, où l'on voit le sérum de lapin immunisé à 1/100 neutraliser encore la dilution à 1/1.000 de sérum d'anguille ; il faut donc admettre que, dans les cas où l'immunité se produit sous l'influence du sérum d'anguille chauffé (non toxique, par conséquent), il y a dans l'organisme formation moindre d'antitoxine que dans le cas où l'immunité se produit sous l'influence de la toxine elle-même; en d'autres termes, il y a réaction moindre de l'organisme.

COURBE N° 14. — *Lapin* albinos ♀, 1.960 gr.

Solution NaCl 0,66 p. 100 :	↑	↑	↑	↑	↑	Diffusion constatée après 7 h. et après 24 h.
Sérum d'anguille. . . .	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/10000	
Solution NaCl 0,66 p. 100 :	↑	0	0	0	0	Constatations faites après 7 h. et après 24 h.
Sérum d'anguille. . . .	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/10000	
Sérum de lapin immunisé	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	
Solution NaCl 0,66 p. 100 :	↑	0	0	0	0	Idem.
Sérum d'anguille. . . .	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/10000	
Sérum chauffé 15′ à 58° de lapin immunisé . .	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	

Ces observations ne présentent-elles pas une grande portée théorique? Il convient de se rappeler que le sérum d'anguille chauffé a perdu tout pouvoir globulicide. Or, il n'en reste pas moins pour cela susceptible de donner lieu à la formation d'une substance spécifiquement antitoxique qui passe dans le plasme sanguin[1]. Il n'est donc pas, ce semble, nécessaire qu'il y ait à un moment donné une toxine dans l'organisme pour que celui-ci puisse produire l'antitoxine correspondante. Nous apportons ici une preuve très simple, facile à donner *in vitro*, de ce fait.

1. On pourrait, il est vrai, nous objecter que le sérum d'anguille chauffé contient encore de très petites quantités de substance toxique. Il est facile de répondre qu'il est impossible d'y déceler trace de substance globulicide, puisque dans ce sérum tel quel, si l'on y fait tomber une goutte de sang, les globules restent intacts. A la vérité, de ce que ce sérum ne détruit plus les globules, il ne suit pas nécessairement qu'il ne puisse altérer d'autres éléments cellulaires de l'organisme, plus sensibles que les hématies. Aussi bien, le sérum chauffé, comme nous l'avons montré, est encore susceptible, dans quelques cas, et à dose extrêmement forte, de déterminer des accidents nerveux passagers. En conclura-t-on qu'il contient encore un peu de toxine spécifique pouvant donner lieu à la réaction organique qui aboutit à la formation d'antitoxine (substance antiglobulicide)?

Remarquons encore que, dans ce cas, c'est-à-dire sans qu'il y ait eu intervention préalable d'une toxine, il peut y avoir réalisation de l'état d'immunité active (immunité active d'Ehrlich). Bien entendu, il faudrait se garder de généraliser cette proposition. Toujours est-il cependant que, dans le cas particulier, sa vérité apparaît certaine[1].

Il est facile de démontrer en effet que le sérum d'anguille chauffé n'a pas par lui-même la propriété antiglobulicide; celle-ci ne peut lui venir du sérum normal, où ne préexiste pas d'antitoxine à côté de la toxine; s'il en était autrement, le chauffage qui, nous le savons, abolit la propriété globulicide, sans altérer la propriété antiglobulicide, ferait du même coup apparaître cette dernière. Or, de nombreuses expériences, dans lesquelles nous avons mélangé du sérum chauffé à du sérum normal et vu que ce dernier conserve toute son activité, ne nous permettent pas de tenir cette interprétation pour exacte.

Nous pouvons même généraliser ce fait. Car nous avons reconnu que les autres sérums globulicides, le sérum de chien, par exemple, ou celui de hérisson, qui, chauffés à 58° pendant 15 minutes, ont perdu tout pouvoir globulicide, n'ont nullement acquis pour cela de propriété antiglobulicide. Ainsi le sérum de chien chauffé n'empêche point l'action dissolvante du sérum normal de chien sur les globules du cobaye. Le sérum de hérisson, dont les globules rouges sont, comme nous l'avons vu, extrêmement résistants à l'action du sérum d'anguille, ne contient pourtant pas trace de substance antiglobulicide. Quoiqu'il

1. On avait bien montré déjà que des substances non spécifiques peuvent conférer l'immunité, mais l'immunité passive, contre certaines infections ou intoxications (voyez particulièrement un travail déjà cité de Calmette et Deléarde, dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, t. X, p. 675-707, 1896); et cette question a pris plus d'importance depuis les découvertes de Phisalix (*Soc. de Biol.*, 1897 et 1898) sur les propriétés vaccinantes de substances chimiquement définies, comme la cholestérine, la tyrosine, etc. Dans d'autres expériences, Phisalix (La propriété préventive du sérum antivenimeux résulte d'une réaction de l'organisme : c'est donc en réalité une propriété vaccinante. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 5 mars 1898, p. 253) a montré qu'avec des doses très faibles de sérum antivenimeux on peut vacciner des animaux contre le venin de vipère et que le sérum de ces animaux devient à son tour susceptible de vacciner d'autres animaux, sans être toutefois antitoxique; il y a donc dans ce cas production par l'organisme d'une substance vaccinante, mais sous l'influence d'une substance vaccinante elle-même.

s'agisse là d'une observation négative, en raison de son importance, nous en donnerons un spécimen dans la courbe n° 15.

Courbe n° 15. — *Cobaye*[1] ♀ 700 gr.

Solution NaCl à 0,66 p. 100 :	↑	↑	↑	↑	↑
Sérum de hérisson.	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800
Sérum de hérisson chauffé à 58° 15 minutes . .	1/30	1/30	1/30	1/30	1/30

Solution NaCl à 0,66 p. 100 :	↑	↑	0 (²)	↑	↑	0 (²)
Sérum de chien.	1/100	1/200	1/400	1/100	1/200	1/400
Sérum de hérisson chauffé.	1/50	1/50	1/50	1/30	1/30	1/30

Solution NaCl à 0,66 p. 100 :	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Sérum d'anguille	1/100	1/200	1/400	1/600	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800
Sérum de hérisson chauffé .	1/50	1/50	1/50	1/50	1/30	1/30	1/30	1/30	1/30

De toutes ces données, il résulte que la substance antitoxique, formée dans l'organisme sous l'influence soit de la toxine elle-même, soit exceptionnellement d'autres corps qui donnent lieu à la même réaction que cette toxine, est spécifique; elle n'a pas, en effet, le pouvoir de neutraliser d'autres toxines dont l'action physiologique paraît cependant identique.

Dans le même ordre d'idées, d'autres problèmes seraient à résoudre, concernant le mode de formation de l'antitoxine dont nous nous occupons. Où se forme cette substance? Aux dépens de quels corps se produit-elle? Ce sont là des questions sur lesquelles nous n'avons pas porté nos investigations.

4. *Nature de l'action antiglobulicide.* — L'autre question que nous avons essayé de résoudre est celle-ci : en quoi consiste l'action antitoxique, est-elle d'ordre chimique ou physiologique[3]?

Dans nos expériences, comme dans celles de Ehrlich sur l'influence de la ricine et de l'antiricine sur l'agglutination du sang, le problème est ramené à ses termes les plus simples : une

1. Nous nous sommes assurés que, dans les mêmes conditions, les globules du lapin réagissent de la même façon.

2. Le sérum normal de chien, à cette dilution (entre 1/400 et 1/600), ne manifeste en général plus de pouvoir globulicide.

3. Cette question a été pour nous l'objet d'une note préliminaire (L. Camus et E. Gley : Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'anguille. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVII, p. 330, 8 août 1898).

quantité très petite (dans notre cas, une quantité infinitésimale) de matière suffisant à modifier le globule rouge de telle sorte que cet élément laisse diffuser sa substance colorante, une quantité non moins faible et proportionnelle d'une autre matière suffit à empêcher la première de produire cette altération de l'élément anatomique. On peut penser que, dans les deux cas, c'est le globule lui-même qui réagit; et, dans le second cas, quand il se trouve en contact avec l'antitoxine, sa perméabilité ne peut plus être accrue par la toxine ; c'est sa résistance, au contraire, qui a augmenté. De fait, dans quelques expériences, le sérum antiglobulicide nous a paru augmenter légèrement la résistance normale des globules rouges du lapin.

Ou bien on peut penser que l'antitoxine se combine avec la toxine, de manière à neutraliser cette dernière; ce serait là un véritable phénomène de neutralisation chimique. C'est, on le sait, l'interprétation que Ehrlich a donnée de ses expériences sur l'antagonisme de la ricine et de l'antiricine. C'est l'interprétation la plus simple. La façon même d'ailleurs dont se passe le phénomène est en sa faveur; l'antitoxine agit sur la toxine suivant la loi chimique des proportions simples ; c'est donc que les deux corps se combinent. Aussi bien, les doses d'antitoxine qui, *in vivo*, neutralisent des doses mortelles de toxine, sont avec ces dernières dans le même rapport simple.

Nos expériences nous permettent-elles d'admettre de préférence l'une ou l'autre de ces théories ?

Rappelons d'abord que les globules rouges du hérisson possèdent une résistance considérable à l'action destructive du sérum d'anguille ; cependant le sérum de cet animal ne contient pas d'antitoxine. En effet, nous avons vu que, si la substance globulicide perd tout son pouvoir, quand on chauffe le sérum à 58° pendant 15 m., au contraire, la substance antitoxique qui se trouve dans le sérum des animaux immunisés n'est nullement altérée par ce chauffage. Chauffons donc du sérum normal de hérisson, animal naturellement réfractaire à l'action du sérum d'anguille ; ce sérum chauffé ne devient en aucune façon susceptible de s'opposer à l'effet de l'ichtyotoxique sur les globules

rouges du lapin ou du cobaye (voyez la courbe n° 15). Ce n'est donc pas grâce à la présence dans leur sang d'une antitoxine pouvant neutraliser chimiquement la toxine introduite que les hérissons sont pourvus d'une immunité naturelle contre le sérum d'anguille, mais leurs globules possèdent une résistance spécifique[1]. — Rappelons encore ici que le sérum d'anguille chauffé, comme nous l'avons vu, ne manifeste non plus aucune propriété antiglobulicide. Ce ne peut donc être qu'en vertu de leurs propriétés physiologiques que les globules rouges de cet animal résistent à l'action si énergique de la substance globulicide qui circule dans son propre sang[2].

Ne serait-il pas très intéressant de rapprocher ces faits de la série de ceux qui ont montré que le sang d'animaux pourvus de l'immunité naturelle contre telle ou telle infection microbienne ne possède pas de propriétés bactéricides?

Il y a là, par conséquent, un mode d'immunité parfaitement défini, que l'on pourrait appeler *cytologique* (immunité *histogène* de Behring). Il concerne, qu'on le remarque, l'immunité naturelle. La question se pose donc irrésistiblement de savoir s'il en est de même pour l'immunité acquise. Voici comment nous avons essayé de résoudre le problème.

Un animal (lapin, par exemple) étant immunisé contre le sérum d'anguille, on lui fait une saignée (soit par la carotide, soit par la fémorale) ; le sang est reçu dans de l'oxalate neutre

1. Il serait curieux de voir si l'on ne pourrait pas faire produire à l'organisme de ces animaux des substances antitoxiques (la substance antiglobulicide, dans le cas qui nous occupe). C'est ce que nous avions commencé à chercher sur deux hérissons; malheureusement, ces animaux sont morts au cours de la période d'immunisation. — Calmette et Deléarde (travail cité) se sont déjà posé cette intéressante question et l'ont résolue affirmativement, en constatant que le sérum de poule immunisée contre l'abrine (la poule est un animal naturellement peu sensible à l'abrine) a acquis la propriété d'immuniser le lapin contre cette toxine végétale.

2. Calmette et Deléarde (*loc. cit.*) soutiennent de même « qu'il n'existe, dans le sang des reptiles, aucune substance antitoxique capable de justifier l'immunité relative qu'ils possèdent à l'égard du venin, ou que, si cette substance existe, elle se trouve juxtaposée à une substance toxique dont il ne nous a pas été possible de la séparer » (p. 680). On sait que Phisalix et Bertrand (Sur l'emploi du sang de vipère et de couleuvre comme substance antivenimeuse. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 23 novembre 1895, p. 751) ont émis l'idée absolument contraire.

de potasse, pour empêcher la coagulation (c'est-à-dire à la dose de 2 p. 1.000), puis on le soumet à l'action de la force centrifuge; après 16 heures, on décante le plasma. On opérera, d'une part, avec ce plasma. D'autre part, la bouillie globulaire est soigneusement lavée deux fois de suite avec une solution hyperisotonique de chlorure de sodium et finalement on la dilue avec un volume de cette même solution égal au volume du plasma. Il est indispensable que toutes ces opérations soient réalisées aseptiquement.

Comment se comportent ces globules et ce plasma vis-à-vis du sérum d'anguille? Il faut distinguer deux cas, suivant que l'animal a été immunisé avec le sérum normal d'anguille ou avec ce sérum chauffé.

Dans ce dernier cas, les globules ne résistent pas plus à l'action destructive du sérum d'anguille que les globules d'un animal témoin (le sang de cet animal non immunisé ayant été traité exactement de la même façon). Au contraire, le plasma contient la substance antiglobulicide que nous avons accoutumé de trouver dans le sérum des animaux immunisés. Ici, par conséquent, les globules de l'animal immunisé n'ont acquis aucune propriété spécifique de la part de l'antitoxine qui circule cependant avec eux dans le sang, de la part de la substance spécifique qui les baigne. Si donc ils résistent à l'action de la toxine, quand ils y sont soumis, ce ne peut être que parce que l'antitoxine empêche cette action de s'exercer. Le phénomène ne paraît guère explicable autrement que par l'action des deux substances l'une sur l'autre, par la neutralisation chimique de la toxine par l'antitoxine (théorie d'Ehrlich). A admettre une action de l'antitoxine sur l'élément anatomique et non sur la toxine, on serait obligé de supposer que les propriétés des globules rouges (perméabilité diminuée, résistance accrue), tenant à la constitution physico-chimique de ces éléments, ne se trouvent modifiées qu'autant et tant qu'ils sont en contact avec l'antitoxine ; dès que celle-ci a été éliminée du milieu, ils redeviendraient semblables à des globules ordinaires. Mais contre cette explication, purement hypothétique d'ailleurs,

on peut invoquer les expériences qui établissent qu'il y a proportionnalité simple entre les quantités d'antitoxine et de toxine qui se neutralisent, c'est-à-dire en définitive que le phénomène se développe comme un phénomène chimique. C'est ce qui est arrivé aussi bien dans les expériences de Ehrlich avec la ricine et l'antiricine et dans celles de Stephens et Myers avec le venin de serpents et le sérum antivenimeux que dans les nôtres et celles de H. Kossel avec le sérum d'anguille et le sérum antiglobulicide.

On est donc amené à penser qu'il y a là un second mode d'immunité tout à fait différent du premier, immunité d'ordre chimique, tenant à l'action chimique réciproque de deux substances, et que l'on peut appeler *humorale* (immunité par une substance contenue dans les humeurs), par opposition à l'immunité cytologique. Or, il s'agit ici d'une immunité acquise. Celle-ci, dans le cas tout au moins du sérum d'anguille, pourrait dépendre conséquemment d'un tout autre mécanisme que l'immunité naturelle.

Hâtons-nous cependant de faire une réserve, qui tient à la distinction que nous avons indiquée plus haut, entre l'immunisation par le sérum d'anguille normal et l'immunisation par ce même sérum chauffé. C'est ce dernier cas que nous venons de considérer. Mais dans le premier cas les choses sont plus complexes. Il se forme bien toujours et l'on trouve bien toujours dans le sérum sanguin et dans le plasma une substance antitoxique, mais les propriétés essentielles des globules rouges se modifient aussi ; la résistance de ces éléments augmente et tend à devenir comparable à celle des globules d'un animal naturellement réfractaire, comme le hérisson. C'est ce qu'il est facile de reconnaître au moyen d'une expérience identique à celle que nous exposions tout à l'heure. Sur un animal (lapin) immunisé par de petites doses répétées de sérum d'anguille, on fait une saignée, on sépare par la centrifugation les globules du plasma, on lave les globules, comme il a été dit, pour les débarrasser de toute trace d'antitoxine, et on éprouve leur résistance vis-à-vis de l'ichtyotoxique. On constate que cette résistance est

augmentée[1]. On constate, d'autre part, que le plasma contient une substance antiglobulicide. Dans nos expériences, la résistance des globules a été quelquefois assez peu augmentée pour que nous ayons pu nous demander si cette légère modification ne tiendrait pas à la présence d'une très petite quantité d'antitoxine, persistant malgré le lavage des globules. Pour être assuré qu'il n'en est rien, il faut voir la résistance des globules augmenter à mesure que l'immunisation devient plus profonde. — Le processus d'immunisation aboutit dans ce cas à une modification dans la constitution des éléments anatomiques qui sont en jeu, telle que cette constitution devient analogue à celle que présentent les mêmes cellules chez les animaux pourvus de l'immunité naturelle. Les deux sortes d'immunité, immunité active d'Ehrlich l'une et l'autre, coexistent par conséquent ici, l'immunité humorale et l'immunité cytologique.

De ces données sortent par voie déductive des conséquences assez importantes. Pour certaines infections ou intoxications deux modes d'immunité paraissent possibles, l'un qui consiste en la formation dans l'organisme d'une antitoxine et l'autre, dans lequel s'ajoutent à ce phénomène des modifications cellulaires profondes. N'est-on pas enclin à penser que cette dernière réaction doit constituer une immunité plus sûre à la fois et plus durable? Ne sait-on pas, en effet, que souvent, dans beaucoup d'infections, l'immunité existe encore, alors qu'il n'y a plus d'antitoxine dans le sang? A ce point de vue, il serait intéressant de rechercher si, au fur et à mesure que se développe l'immunité cytologique, l'immunité humorale ne s'affaiblit

1. Ce fait a été brièvement, mais très clairement, signalé par H. Kossel (*loc. cit.*). Voici, en effet, ce qu'il dit à ce sujet : « Ich prüfte die vom antitoxischen Serum sorgfältig befreiten rothen Blutkörperchen meiner immunisirten Kaninchen auf ihr Verhalten gegenüber dem Aalgift und konnte feststellen, dass sie widerstandfähiger gegen die auflösende Wirkung des Giftes geworden waren und zwar entsprechend dem Grade der Immunität der Thiere. » — Mais dans cette expérience comme dans celle que nous donnons ici même, il conviendrait sans doute, pour apprécier à sa valeur l'augmentation de résistance signalée des hématies, de tenir compte de ce fait que, sous l'influence de l'injection de toxine, les globules les moins résistants ont été nécessairement détruits; il faudrait par suite distinguer entre l'augmentation apparente de résistance globulaire, tenant à ce phénomène, et l'augmentation réellement due au processus immunisant.

pas, si l'antitoxine n'est pas formée en moindre quantité ou même ne disparaît pas. Le second mode serait ainsi un procédé d'abord mis en l'œuvre par l'organisme comme plus facile et plus rapide, mais auquel peut faire suite le premier.

Comment comprendre, il est vrai, la substitution de l'un à l'autre ou même la simple coexistence des deux modes? Le cas dont il s'agit ici, immunisation contre le sérum d'anguille, offre encore cet avantage de fournir peut-être aussi sur ce point difficile une explication plausible. La toxine détruisant des globules rouges en plus ou moins grand nombre, les globules nouveaux, formés quand le plasma dans lequel ils sont baignés a subi des modifications assez profondes, ne doivent-ils pas subir à leur tour l'influence de ce plasma et acquérir des propriétés qui diffèrent de celles des globules dont la genèse se fait au contact d'un plasma normal? Ainsi naîtraient et se développeraient des éléments anatomiques pourvus d'une propriété nouvelle. Dans cette hypothèse, on rendrait compte plus aisément de la persistance de l'immunité acquise vis-à-vis de diverses infections et même de la transmission héréditaire de cette immunité.

III. — Conclusions.

Ces expériences sur l'immunisation contre le sérum d'anguille nous ont permis d'établir sur des preuves très simples, *in vitro*, quelques données qui ne laissent pas de paraître intéressantes : le fait de la réaction directe d'une antitoxine sur une toxine ; l'atténuation d'une toxine par le chauffage et la non-atténuation de l'antitoxine ; la formation d'une antitoxine par une réaction de l'organisme produite sans intervention de la toxine correspondante ; le moyen, par l'étude d'une réaction cellulaire simple, de constater l'apparition de l'antitoxine et de suivre les variations de l'activité de cette substance ; la détermination de la nature des deux sortes d'immunité, la naturelle, qui tient à une propriété de cellule, et l'acquise, qui dépend des propriétés d'une antitoxine et de la neutralisation chimique de la toxine

par cette antitoxine ; la détermination, dans l'immunité acquise elle-même, à côté de ce mécanisme chimique, d'un mécanisme perfectionné, qui n'est autre chose qu'une immunisation d'ordre cytologique, comme est l'immunité naturelle.

APPENDICE

Nous nous étions proposé d'étendre cette étude du sérum d'anguille et de rechercher si les venins et diverses toxines microbiennes ne possèdent pas non plus une action globulicide.

Nous avons constaté que le venin de serpents qui nous avait été envoyé par M. Calmette (mélange de trois venins) ne possède qu'une très faible action dissolvante sur les globules rouges du cobaye ; à la dose de 1/50, il est encore sans effet; il faut arriver à la dose de 1/30 pour observer la diffusion de l'hémoglobine dans une solution salée légèrement hyperisotonique (0,66 NaCl p. 100). D'autre part, nous avons vu que le sérum antivenimeux (de Calmette) n'a aucune influence sur l'action globulicide du sérum d'anguille. Nous avons déjà dit pourquoi (voyez p. 70) nous n'avions pas poursuivi ces essais.

Quant aux toxines microbiennes, nous n'avons fait d'expériences qu'avec un échantillon de toxine diphtérique qui nous avait été très obligeamment donné à l'Institut Pasteur ; cette toxine nous a paru n'avoir aucune action globulicide ; il est vrai qu'elle avait été chauffée, et il est possible que le chauffage empêche plus ou moins cette action. Il faudrait donc recommencer ces essais avec une toxine non chauffée[1].

Paris, août 1898.

1. Nous ne croyons pas que des expériences semblables aient été déjà réalisées. Mais un élève du professeur Piscnti (de Pérouse), G. B. Bianchi-Mariotti (Azione dei prodotti solubili dei microrganismi sull' isotonia e sul contenuto emoglobinico del sangue. *Lavori dell' Istituto anatomo patologico dell' Universita di Perugia*, t. III, 1893. — L'isotonia del sangue nelle infezioni sperimentali. *Ibidem*, t. IV, 1897) a fait d'intéressantes recherches sur les variations de l'isotonie globulaire normale chez le lapin, sous l'influence d'injections de diverses toxines ou de cultures virulentes; il a constaté, dans ces cas, une diminution de la résistance normale des hématies; cette diminution est souvent assez faible.

VI

EXPÉRIENCES CONCERNANT L'ÉTAT RÉFRACTAIRE AU SÉRUM D'ANGUILLE. IMMUNITÉ CYTOLOGIQUE *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Nous avons précédemment montré[1] que le hérisson résiste naturellement à d'assez fortes doses de sérum d'anguille ; nous avons en même temps donné la preuve, du moins en ce qui concerne une des propriétés les plus importantes de ce sérum toxique, sa propriété globulicide, que cette immunité naturelle ne tient nullement à la présence, dans le sang de cet animal, d'une substance antitoxique (antiglobulicide), mais bien à la résistance spécifique des globules rouges, c'est-à-dire à une organisation cellulaire spéciale. Nous avons qualifié cette immunité de *cytologique*, par opposition à l'immunité acquise, qui est d'ordre *humoral*, résultant de la production d'antitoxine dans l'organisme de l'animal immunisé.

Nous avons eu, depuis, l'occasion de constater que d'autres animaux sont également pourvus de cette immunité cytologique pour le sérum d'anguille. Nous avons expérimenté sur des batraciens, la grenouille (*Rana temporaria*) et le crapaud (*Bufo vulgaris*); sur des oiseaux, poule et pigeon[2]; sur des Chéirop-

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 24 juillet 1899, t. CXXIX, p. 231.

1. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVI, p. 28, 31 janvier 1898; t. CXXVII, p. 330, 8 août 1898, et *Arch. intern. de Pharmacodynamie*, t. V, p. 247-305, 1898.

2. On peut, à ce propos, se demander si tous les animaux pourvus de globules rouges à noyau n'ont pas une résistance plus grande au sérum de l'anguille.

tères (*Vespertilio murinus*). Chez tous ces animaux, les globules rouges, préalablement séparés du plasma par la force centrifuge, et éprouvés par le procédé que nous avons indiqué (méthode de l'isotonie, procédé de Mosso-Viola), se sont montrés très résistants à l'action du sérum d'anguille; celui-ci, même à la dose de 1/100, ne fait pas diffuser l'hémoglobine de ces globules. D'autre part, dans aucune de ces espèces, le sérum sanguin n'est pourvu de propriété antiglobulicide. C'est donc bien par eux-mêmes, en vertu de leur organisation ou constitution propre, que les hématies de tous ces animaux, comme celles du hérisson, résistent à l'action dissolvante de l'ichtyotoxine.

Cette immunité naturelle, d'ordre cytologique, existe, bien entendu, durant la vie entière de l'animal qui en est pourvu.

Mais il est des animaux qui ne possèdent cette même immunité que pendant une phase de leur existence. Il faudrait donc distinguer une immunité naturelle *permanente* et une immunité naturelle *transitoire* ou *passagère*.

Dans nos recherches antérieures, nous avons vu que le lapin est un animal particulièrement sensible à l'action du sérum d'anguille, puisque ses globules laissent encore diffuser leur matière colorante dans des dilutions de ce sérum à 1/10.000, 1/20.000. Or, c'est une chose remarquable que la résistance des globules des lapins nouveau-nés[1] à ce pouvoir dissolvant. Nous avons étudié sur de petits lapins de la même portée les variations de cette résistance. Très marquée dans les premiers jours qui suivent la naissance, elle s'atténue à partir du moment où les petits ouvrent les yeux, c'est-à-dire du quinzième au vingtième jour, pour disparaître ensuite définitivement. Mais, à aucun moment, nous n'avons constaté que le sérum de ces animaux fût antiglobulicide. Ici encore, nous retrouvons donc la distinction profonde qu'il y a lieu, croyons-nous, d'établir entre l'immunité naturelle et l'immunité acquise.

Incidemment, nous avons eu une autre preuve de cette distinction. Au cours de nos recherches, une lapine, qui avait été

1. Ces globules n'ont pas de noyau.

immunisée pendant quelque temps, mit bas; sur plusieurs de ses petits, nous répétâmes les expériences dont nous venons de parler; les hématies de ces animaux présentaient bien la résistance habituelle, mais en même temps le sérum sanguin contenait une petite quantité de substance antiglobulicide, susceptible de neutraliser 1/2.000 de sérum toxique. Les deux sortes d'immunité peuvent donc coexister chez le même animal.

VII

NOUVELLES RECHERCHES SUR L'IMMUNITÉ CONTRE LE SÉRUM D'ANGUILLE

Contribution à l'étude de l'immunité naturelle *.

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Dans plusieurs notes et dans un mémoire antérieurement publiés[1], nous avons montré que le sérum d'anguille, qui dissout très facilement les globules rouges du lapin, perd cette propriété si on y ajoute du sérum sanguin d'un lapin préalablement immunisé contre ce sérum d'anguille[2]; que cette action du sérum d'animal immunisé se ramène à un phénomène chimique (action directe de l'antitoxine sur la toxine); qu'il existe des animaux, comme le hérisson, pourvus d'une résistance plus ou moins marquée à la toxine dont il s'agit, et que, chez ces ani-

* *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 octobre 1899, t. XIII, p. 779-787.

1. L. Camus et E. Gley : De la toxicité du sérum d'anguille pour des animaux d'espèce différente (lapin, cobaye, hérisson) (*C. R. Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, p. 129); — De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, CXXVI, p. 428, 31 janvier 1898); — Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'anguille (*Ibid.*, CXXVII, p. 330, 8 août 1898); — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise (*Arch. intern. de Pharmacodynamie*, t. V, p. 247-305, 1898).

2. Dans un travail publié dans ces *Annales* (t. XIII, p. 406, 25 mai 1899), Tchistovitch attribue cette découverte à H. Kossel. « Cette découverte de Kossel, écrit-il, a été confirmée dans ces derniers temps par MM. Camus et Gley » (*loc. cit.*, p. 406); et, plus loin, il dit encore : « Ce fait (il s'agit de la résistance des hématies des lapins immunisés à l'action dissolvante du sérum d'anguille) a été confirmé par Camus et Gley sans réserve (p. 409). » Tchistovitch n'a évi-

maux, les globules rouges ne sont pas détruits par cette substance. Ces faits et d'autres encore que l'on trouve dans les travaux indiqués ci-dessus nous ont permis de dire que nous avions établi sur des preuves très simples, reposant en grande partie sur des expériences *in vitro*, les données suivantes : « la réaction directe d'une antitoxine sur une toxine ; l'atténuation d'une toxine par le chauffage et la non-atténuation de l'antitoxine ; la formation d'une antitoxine par une réaction de l'organisme produite sans intervention de la toxine correspondante ; le moyen, par l'étude d'une réaction cellulaire simple, de constater l'apparition de l'antitoxine et de suivre les variations de l'activité de cette substance ; la détermination de la nature des deux sortes d'immunité, la naturelle, qui tient à une propriété de cellule, et l'acquise, qui dépend des propriétés d'une antitoxine et de la neutralisation chimique de la toxine par cette antitoxine ; la détermination, dans l'immunité acquise elle-même, à côté de ce mécanisme chimique, d'un mécanisme perfectionné, qui n'est autre chose qu'une immunisation d'ordre cytologique, comme est l'immunité naturelle » (L. Camus et E. Gley, *Arch. intern. de pharmacodynamie*, V. p. 304, 1898).

Depuis lors, continuant ces recherches, nous nous sommes attachés d'abord à l'étude de la distinction entre les deux sortes d'immunité, cytologique et humorale.

I. — En premier lieu, nous avons cherché s'il ne serait pas possible d'obtenir à coup sûr des animaux chez lesquels l'immunité, due à la production d'une antitoxine et à la présence dans le sang de cette antitoxine, ferait place à l'immunité tenant à une résistance non plus naturelle, mais acquise des hématies dans le

demment pas consulté les textes originaux, puisque les notes dans lesquelles nous avons démontré cette « découverte » sont du 29 et du 31 janvier 1898, et que celle de Kossel est du 14 février 1898 (Zur Kenntniss der Antitoxinwirkung ; *Berliner klin. Wochens.*, 14 février 1898). On peut voir d'ailleurs dans la note de Kossel une brève mention de nos expériences. Abstraction faite, comme il convient, de toute question spécieuse de priorité, le vrai est, ainsi que nous l'avons écrit déjà (*Arch. de Pharmacodynamie*, loc. cit., p. 290), que Kossel « avait de son côté conçu et réalisé d'une manière indépendante la même expérience » que nous (voy. ci-dessus p. 69).

cas particulier. Rappelons que, dans toutes nos expériences, il s'agit d'apprécier la résistance des globules rouges à l'action du sérum d'anguille.

Pour voir si l'immunité cytologique ne se substituerait pas à l'immunité humorale, il était assez rationnel de prolonger l'immunisation des animaux en expérience[1]. On pouvait en effet se demander si les globules des animaux soumis pendant longtemps à l'action de doses, d'abord faibles, puis progressivement plus fortes, de sérum d'anguille, n'acquerraient pas peu à peu une résistance plus ou moins comparable à celle des animaux pourvus de l'immunité naturelle.

Jusqu'ici, nos expériences n'ont pas été favorables à cette supposition. Voici, par exemple, un lapin qui, du 8 novembre 1898 au 4 mars 1899, reçoit dans les veines, par doses de 0,01 c. c., puis de 0,02 c. c., 0,03, 0,04, 0,05, enfin de 0,1, 0,2, 0,3 et 0,4, en tout 3 c. c. 05 de sérum d'anguille. Le 10 mars, on lui fait par l'artère fémorale une saignée de 20 c. c.; le sang est reçu dans une solution d'oxalate neutre de potasse, pour empêcher la coagu-

1. Dans ces recherches, nous avons immunisé les animaux au moyen du sérum normal d'anguille. Dans nos recherches antérieures, nous avions également employé dans ce but le sérum chauffé à 58° pendant un quart d'heure (voy. notre mémoire des *Arch. int. de pharmacodynamie*, p. 279-281 et 296-299 [ci-dessus p. 57-58 et 76-79]); et nous avions constaté que l'antitoxine obtenue de cette façon se comporte comme celle qui se forme dans l'immunisation par le sérum normal, et essayé de tirer les conséquences de ce fait. Tchistovitch (voy. p. 411 de son mémoire) ne semble pas avoir eu connaissance de nos expériences sur ce point.

Par contre, et contrairement à ce que nous avions montré (p. 257 et suiv. de notre mémoire [ci-dessus p. 31]), il soutient que le chauffage du sérum d'anguille à 55° pendant une demi-heure laisse intacte la toxicité de ce liquide pour les lapins. Voici quelques expériences tout à fait opposées à cette opinion : 1° Cobaye ♂ de 670 gr., qui reçoit dans la jugulaire droite 0,1 c. c. de sérum dilué dans 1 c. c. d'eau salée, et chauffé à 55° pendant une demi-heure; observé pendant plus d'une heure, il ne présente aucun trouble; le lendemain, il est très bien portant. — 2° Cobaye ♀ de 230 gr.; injection dans la veine jugulaire droite de 0,1 c. c. de sérum dilué dans 1 c. c. d'eau salée, et chauffé à 55° pendant une demi-heure. Rien à noter. — 3° Expérience témoin : Cobaye ♀ de 640 gr.; injection dans la veine jugulaire de 0,5 c. c. du même sérum non chauffé, dilué dans 0,5 c. c. d'eau salée; mort en une minute. — 4° Lapin ♀, pesant 1.820 gr.; injection intra-veineuse de 0,364 c. c. de sérum d'anguille, chauffé entre 55 et 56° pendant une demi-heure, dilué dans 3,5 c. c. d'eau salée (soit 0,2 c. c. par kilo, dose sûrement toxique); rien à noter, sauf, une heure après l'injection, du myosis, plus marqué à gauche; le lendemain, l'animal est très bien portant. — 5° Expérience témoin : lapin ♀, de 1.820 gr.; injection de la même quantité du même sérum, semblablement dilué, mais non chauffé; la mort a lieu en 2′ ou 2′ 30″ avec les accidents les plus habituels.

lation; puis on le soumet à l'action de la force centrifuge pendant plusieurs heures; on décante le plasma, on lave trois fois de suite la bouillie globulaire avec une solution de chlorure de sodium à 10 p. 1.000; on enlève ensuite la couche supérieure. On éprouve alors la résistance des globules ainsi lavés, débarrassés par conséquent de toute trace de plasma pouvant contenir de l'antitoxine; et ces globules n'ont pas montré une grande résistance au sérum d'anguille; du moins, ils se dissolvaient encore en partie sous l'influence de 1/2.000 de ce sérum [1].

Par contre, voici un autre lapin, immunisé du 8 au 14 mai, et qui reçoit, le 8 mai, 0,05 c. c. de sérum; le 10, une même dose; le 12, 0,1 c. c.; et le 14, 0,2 c. c., soit en tout 0,4 c. c. Le 15 mai, on lui fait une saignée comme à l'animal précédent et on prépare les globules rouges de la même façon. On constate que ceux-ci résistent au sérum d'anguille à 1/2.000 et même à 1/1.000; de plus, s'il y a destruction de globules par ce sérum à 1/100, 1/200, 1/400 et 1/800, beaucoup d'hématies cependant, contrairement à ce qui se passe avec le sang d'animaux normaux

1. Cet animal s'est d'ailleurs montré réfractaire à une dose toxique de sérum d'anguille. Le 19 mars, son poids étant de 3 kil. 440, il reçut dans la veine marginale de l'oreille 1,4 c. c. de sérum, soit 0,406 c. c. par kil., dose au moins double de la dose sûrement mortelle. Il ne manifesta aucun trouble. On pourrait se demander, étant donnée la faible quantité d'antitoxine que contenait le sang de cet animal, si certains éléments anatomiques, les cellules nerveuses par exemple, n'avaient pas acquis une résistance spécifique. La chose est possible. Mais il faut néanmoins remarquer qu'en éprouvant la valeur de l'antitoxine présente dans le sang de ce lapin nous avions constaté que 1/100 du plasma sanguin neutralisait à peu près complètement 1/2000 de sérum d'anguille. Il suit de là que, théoriquement, ce plasma pouvait contenir la quantité d'antitoxine nécessaire pour neutraliser 1,4 c. c. de sérum toxique; il est facile de calculer que, pour cela, 28 c. c. d'un plasma doué seulement de l'efficacité sus-indiquée étaient suffisants. La signification d'un pareil calcul peut, il est vrai, être infirmée par l'expérience.

De fait, voici une expérience sur un lapin, où il se trouve justement que le sang de cet animal contenait la même quantité d'antitoxine que celui du lapin précédent et où l'on voit pourtant que l'animal fut incapable de résister à une dose mortelle de sérum. Il s'agit d'un lapin qui reçut en injection intra-veineuse 0,1 c. c. de sérum d'anguille; quarante-deux heures après, on constata que ses globules sanguins ne diffusaient plus dans une dilution à 1/2000 de sérum d'anguille, c'est-à-dire que son sang contenait une quantité d'antitoxine égale à celle que l'on trouvait dans le sang d'un animal immunisé pendant 4 mois environ. Cependant ce même lapin, ayant reçu dans une veine 0,4 c. c. de sérum par kil., présenta tous les accidents habituels de cette intoxication, sauf l'hémoglobinurie, et mourut en 1 heure 33'. Remarquons toutefois qu'un animal témoin mourut en 12 minutes à la suite de l'injection d'une dose moitié moindre, soit 0,2 c. c. par kilogramme.

(non immunisés), dont les hématies sont totalement détruites, échappent à cette action dissolvante et se retrouvent dans le fond des tubes à expérience[1]. — Ce fait est particulièrement intéressant; comme il ne s'observe jamais avec le sang des animaux normaux (non immunisés) auquel on a ajouté du sérum d'anguille à ces doses ci-dessus indiquées de 1/100 à 1/800, il ne paraît pas pouvoir être expliqué par cette supposition que, sous l'influence des injections successives de toxine, les globules les moins résistants ont été détruits; si le phénomène tenait à une telle cause, à une différence naturelle de résistance entre les globules d'un même animal, il y a des cas où l'on devrait voir de ces globules, chez les animaux non immunisés, échapper à l'action dissolvante du sérum d'anguille.

C'est là une constatation analogue à celles qui nous avaient permis de dire, dans notre mémoire cité plus haut des *Arch. de pharmacod.*, que, dans certains cas, l'immunisation aboutit à une modification des propriétés essentielles des globules rouges; « la résistance de ces éléments augmente et tend à devenir comparable à celle des globules d'un animal naturellement réfractaire, comme le hérisson » (*loc. cit.*, p. 302 [ci-dessus p. 83]). On retrouve cette idée très bien mise en valeur dans le mémoire de Tchistovitch; c'est même une des idées maîtresses de ce travail. « Il se passe pendant l'immunisation contre le sérum d'anguille, écrit l'auteur (p. 411), certaines modifications dans les globules rouges, qui ont pour conséquence un surcroît de stabilité; cependant, il faut ajouter que les modifications dont il est question ne sont nullement parallèles à l'antitoxicité du sang; loin de là, elles la remplacent au moment où l'antitoxicité au cours de l'immunisation baisse en cédant la place à une immunité pour ainsi dire cellulaire. » C'était aussi une idée à laquelle nous nous étions fortement attachés dans notre travail de 1898. « Le processus d'immunisation, disions-nous, aboutit dans ce cas à une modification dans la constitution des éléments anatomiques qui sont en jeu, telle que cette constitution devient analogue à celle

1. On peut rapprocher ce phénomène de celui tout à fait identique, que nous avons constaté avec le sang des lapins nouveau-nés. Voyez ci-dessous, p. 98.

que présentent les mêmes cellules chez les animaux pourvus de l'immunité naturelle... Pour certaines infections ou intoxications, deux modes d'immunité paraissent possibles, l'un qui consiste en la formation dans l'organisme d'une antitoxine et l'autre dans lequel s'ajoutent à ce phénomène des modifications cellulaires profondes. N'est-on pas enclin à penser que cette dernière réaction doit constituer une immunité plus sûre à la fois et plus durable? Ne sait-on pas, en effet, que souvent, dans beaucoup d'infections, l'immunité existe encore, alors qu'il n'y a plus d'antitoxine dans le sang? A ce point de vue, il serait intéressant de rechercher si, au fur et à mesure que se développe l'immunité cytologique, l'immunité humorale ne s'affaiblit pas, si l'antitoxine n'est pas formée en moindre quantité ou même ne disparaîtpas » (L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*, p. 303 [ci-dessus p. 84]).

Chez les deux animaux dont l'observation a été résumée plus haut, comme chez tous ceux sur lesquels nous avons observé les mêmes faits, le sang contenait de l'antitoxine, c'est-à-dire une substance s'opposant *in vitro* à l'action globulicide du sérum d'anguille. Seulement celle qui se trouvait dans le sang du premier était moins active que celle du second.

A ce propos, nous avons remarqué que la quantité ou l'activité de la substance antiglobulicide qui se forme dans l'organisme est moindre chez les animaux soumis à une immunisation prolongée que chez les animaux rapidement immunisés[1]. Nous n'insistons pas sur ce point; c'est un fait que Tchistovitch a très bien vu (*loc. cit.*, p. 408-409). Telle paraît être la portée de ce fait qu'il conduit à penser que, si l'immunité persiste au cours de ce processus, c'est grâce à la substitution d'une résistance cellulaire à la formation et à l'action d'une antitoxine.

On a vu que nos expériences actuelles ne nous paraissent pas autoriser définitivement cette conclusion et ne nous révèlent point les conditions dans lesquelles peut se réaliser cette substi-

1. Il convient de rappeler que, dans ses expériences sur l'immunité contre la ricine, Ehrlich a montré que, au delà d'un degré déterminé d'immunité et même si l'immunisation a été prolongée, il est très difficile d'augmenter la résistance (voy. Ehrlich : Exper. Unters. über Immunität [*Deuts. med. Wochens.*, 6 août 1891, p. 976]).

tution. Celle-ci s'opère quelquefois, incomplètement d'ailleurs, puisque nous avons toujours trouvé de l'antitoxine[1] dans le sang des animaux étudiés; voilà tout ce que nous pouvons dire. En ce sens, il n'y a pas substitution absolue de l'une à l'autre sorte d'immunité; ce que nous avons toujours vu jusqu'à présent en effet, c'est la coexistence de la résistance accrue des globules avec la présence dans le sang d'une certaine quantité d'antitoxine. De nouvelles recherches sont donc à entreprendre à ce sujet.

II. — En raison de l'importance de toutes les données relatives à l'immunité naturelle et eu égard à la pénurie de nos connaissances sur la cause et sur la nature de cette propriété, il importait de chercher s'il n'y a pas d'autres animaux que le hérisson qui soient réfractaires au sérum d'anguille.

Nous avons fait cette recherche sur diverses espèces, des Batraciens, grenouille (*Rana temporaria* et *esculenta*) et crapaud (*Bufo vulgaris*); des Chéloniens, tortue (*Testudo græca*); des Oiseaux (poule et pigeon), des Chéiroptères (*Vespertilio murinus*). Sur tous ces animaux nous avons constaté que les globules rouges, séparés du plasma par la force centrifuge, et éprouvés par le procédé que nous avons décrit dans notre première note à l'Académie des sciences et dans notre mémoire des *Archiv. intern. de pharmacodynamie* (méthode de l'isotonie [Hamburger], procédé de Mosso-Viola), sont très résistants à l'action dissolvante du sérum d'anguille[2]; celui-ci, même à la dose de 1/100, ne fait pas diffuser l'hémoglobine de ces globules. Comparativement, nous avons vu que le sérum d'aucun de ces animaux ne contient de substance antiglobulicide. C'est donc bien par eux-mêmes, en vertu de leur organisation ou constitution propre, que les hématies de tous ces animaux, comme

1. Il est vrai que, dans cette série d'expériences, nous avons toujours saigné les animaux trop peu de temps peut-être après la dernière injection. Pour cette raison aussi, de nouvelles expériences sont nécessaires pour trancher la question.

2. Dans une note à l'Académie des Sciences (L. Camus et E. Gley, Expériences concernant l'état réfractaire au sérum d'anguille. Immunité cytologique [*C. R.*, t. CXXIX, p. 231, 24 juillet 1899]), nous avons indiqué les résultats généraux de ces expériences (voy. ci-dessus p. 87).

celles du hérisson, résistent à la toxine du sang de l'anguille. Ainsi l'immunité naturelle, en ce qui concerne la toxine considérée ici, tient à une constitution cellulaire spéciale; la preuve que de nouveau nous en donnons *in vitro* par une expérience facile à répéter, est des plus simples et, croyons-nous, des plus claires.

Il serait intéressant de savoir quelle est la résistance des animaux énumérés ci-dessus à la toxicité générale du sérum d'anguille. Tchistovitch dit (*loc. cit.*, p. 407) que les poules sont insensibles à ce poison. Nous avons fait de notre côté des expériences sur le pigeon. Nous en rapporterons quelques-unes : 1° Pigeon de 380 gr. A 6 h. 2, on injecte dans la veine brachiale 0,5 c. c. de sérum dilué dans 0,5 d'eau salée. 6 h. 9 et 6 h. 12, vomissement. Rien d'autre à noter. Les jours suivants, l'animal se porte très bien. — On remarquera que la dose employée est le double de la dose mortelle pour des mammifères sensibles au sérum d'anguille, et de poids équivalent. En voici la preuve : le même jour, à 6 h. 26, à un cobaye de 740 gr., on fait une injection dans une veine jugulaire de la même quantité du même sérum. 6 h. 34, dyspnée, parésie avec, par moments, mouvements impulsifs. 6 h. 36, chute sur le flanc. 6 h. 41, arrêt de la respiration. Jusqu'à 6 h. 45, on observe quelques rares respirations agoniques. L'animal est donc mort en 15 min. environ. — 2° Pigeon de 350 gr. A 5 h. 47, injection intra-veineuse de 0,1 c. c. de sérum dilué dans 1 c. c. d'eau salée. 5 h. 52, vomissement. L'animal se tient affaissé; il peut cependant se relever, il le fait d'ailleurs spontanément par moments; il vole aussi très bien. Deux jours après, il avait le même poids. Mort acccidentelle deux jours plus tard. — 3° Pigeon de 380 gr. De 6 h. 16 à 6 h. 17, injection intra-veineuse de 5 c. c. d'eau salée contenant 0,5 c. c. de sérum d'anguille. Un peu d'agitation à la fin de l'injection. 6 h. 19, sécrétion salivaire abondante. 6 h. 21, dyspnée qui paraît tenir à une sécrétion trachéale marquée. 6 h. 25, 74 respirations par minute. 6 h. 35, même dyspnée; la salivation est toujours aussi abondante. 7 h. 25, amélioration; l'animal redevient assez vif. Le lendemain, il fut

trouvé mort. — Ces faits suffisent pour montrer que la résistance du pigeon à l'action toxique générale du sérum d'anguille est assez considérable.

III. — Parmi les animaux dont nous venons de parler, il en est, comme le hérisson, la chauve-souris, dont les globules rouges sont dépourvus de noyau; mais tous les autres possèdent des hématies nucléées. On pouvait se demander si des animaux, habituellement très sensibles au sérum d'anguille, tel que le lapin, n'y seraient pas plus ou moins réfractaires à cette période de leur existence (période fœtale) où leurs globules rouges, pourvus d'un noyau, paraissent avoir une constitution différente de celle des hématies de l'état adulte. Nous n'avons pas fait cette recherche sur des fœtus de lapins, sur lesquels il est assez difficile de se procurer des quantités suffisantes de sang dans de bonnes conditions, mais nous l'avons faite sur des lapins nouveau-nés. Nous avons trouvé que les globules sanguins de ces animaux, dépourvus de noyau, sont très résistants à l'action dissolvante du sérum d'anguille[1]. Nous résumons nos expériences dans le tableau de la page suivante.

Les globules de ces animaux présentent donc une résistance très marquée, puisque ceux du lapin adulte laissent encore diffuser leur hémoglobine dans des dilutions de sérum d'anguille à 1/10.000, à 1/15.000 et même quelquefois à 1/20.000, comme nous l'avons montré. Cette résistance ne s'atténue guère jusqu'au 15ᵉ jour après la naissance ; elle ne paraît offrir que des différences purement dépendantes des individus; vers le 18ᵉ jour, la diminution est plus appréciable; à partir de ce moment, elle s'abaisse en effet rapidement. Remarquons néanmoins que, contrairement à ce qui se passe dans le sang de l'adulte, l'hématolyse, même à ce moment, n'est pas encore totale; il reste dans le fond des tubes à expérience un dépôt globulaire assez volumineux.

Ainsi l'immunité naturelle, d'ordre cytologique, peut n'être

1. Nous avons indiqué ce fait dans notre note à l'Académie des Sciences, du 24 juillet 1899, citée plus haut.

point permanente, mais au contraire transitoire ; elle peut ne pas durer toute la vie de l'être qui la présente, mais seulement une phase de son existence.

NUMÉROS	ANIMAUX	PORTÉES	AGE	POIDS	SOLUBILITÉ des GLOBULES ROUGES	QUANTITÉ D'ANTITOXINE contenue dans le sérum
			jours	gr.	sérum d'anguille.	
1[1]	♀	A	4	52	Jusqu'à 1/400	Égale à 10 : 1
2	♂	B	5	70	— 1/200	0
3	Albinos ♂	C	6	82	— 1/400	0
4		B	7	44	— 1/200	0
5		A	8	80	— 1/400	
6	♂	B	9	100	— 1/100	0
7		D	9	98		0
8		D	9	106	— 1/400	
9	♂	C	10	87	— 1/800	0
10	♂	D	16	142	— 1/400	
11[2]	Albinos ♀	A	17	183	— 1/2000	
12[3]	— ♂	C	18	135	— 1/8000	Lég[t] inférieure à 40 : 1
13[4]	♂	D	25	400	— 1/8000	0
14[5]	♀	D	29	495	— 1/8000	

1. La mère avait été immunisée ; elle n'avait plus reçu de toxine depuis 9 jours, 4 jours avant sa mise bas.
2. La mère, qui est celle aussi du n° 1, n'avait plus reçu de toxine depuis 19 jours. Yeux entr'ouverts.
3. La diffusion est très faible. Yeux ouverts.
4. Beaucoup de globules non dissous, même dans la dilution à 1/200 de sérum d'anguille. L'hématolyse est loin d'être totale, comme cela arrive pour les globules de l'adulte.
5. Même remarque.

Cette immunité naturelle passagère est bien de nature cellulaire ; à aucun moment, nous n'avons constaté que le sérum de ces animaux fût antiglobulicide. Seuls, les n[os] 1 et 11 avaient un sérum contenant une certaine quantité d'antitoxine, mais ils étaient nés d'une mère immunisée[1].

Ce fait montre que les deux sortes d'immunité, cytologique et humorale, peuvent coexister chez le même animal, comme nous l'avions indiqué dans notre mémoire des *Archives de pharmacodynamie* (p. 302-303 [ci-dessus p. 83-84]), et, d'autre part, constitue une preuve de la distinction profonde qui paraît devoir être maintenue entre l'immunité naturelle et l'immunité acquise, au point de vue de leur mécanisme ordinaire.

1. Sur le n° 5, de la même portée, la recherche de l'antitoxine dans le sérum n'a pas été faite.

VIII

A PROPOS DE L'EXISTENCE, DANS UN SÉRUM SANGUIN, D'UNE ACTION ANTAGONISTE DE L'ACTION HÉMOLYTIQUE *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Les intéressantes observations de MM. Jean Camus et Pagniez[1] nous donnent l'occasion de revenir sur un fait que nous avions constaté il y a quelques années[2], lors de nos recherches sur l'action hémolytique du sérum d'anguille et sur la production de l'immunité contre cette action.

Nous avions vu un certain nombre de fois que ce sérum, dont nous avons montré l'extrême pouvoir globulicide, peut, après chauffage à 58° pendant 15 à 30 m., devenir antiglobulicide. Cette propriété cependant était toujours moins marquée que celle des animaux immunisés contre le sérum d'Anguille[3]. Nous

* *C. R. de la Soc. de Biol.*, 6 juillet 1901, t. LIII, p. 732.

1. Il s'agissait de la constatation dans beaucoup de sérums humains d'une substance protectrice existant dans ces sérums à côté de l'alexine et capable de s'opposer dans une certaine mesure à l'action de cette dernière (J. Camus et Ph. Pagniez. *Soc. de Biol.*, 6 juillet 1901, p. 730). Les auteurs rapprochaient ces faits de ceux rapportés par Phisalix et G. Bertrand (*Soc. de Biol.*, 2 août et 23 novembre 1895, p. 637 et 751) et montrant dans le sang du hérisson et de la vipère la coexistence de substances toxiques et antitoxiques. Comme on va le voir, on peut se demander s'il n'en va pas ainsi pour le sang de l'anguille. (*Note ajoutée.*)

2. L. Camus et E. Gley : Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise. *Arch. intern. de pharmacodynamie*, V, 247-305, 1898.

3. La question se posait, dans ce cas, de savoir comment il se fait que le sérum d'anguille chauffé devienne antiglobulicide. L'action ménagée de la chaleur donnerait-elle naissance à une transformation de la substance toxique (globulicide) en substance antitoxique, ou bien préexisterait-il à côté de la

avions vu aussi quelquefois que le sérum d'anguille chauffé peut s'opposer à l'action globulicide d'un autre sérum, celui du chien par exemple, qui détruit très aisément les globules rouges du lapin ou du cobaye; 3 ou 4 gouttes de sérum d'anguille chauffé empêchaient l'action destructive d'une goutte de sérum de chien sur les globules rouges du cobaye (1 goutte de sang de cobaye diluée dans 5 c. c. NaCl à 0.66 p. 100). Mais, d'autres fois et plus souvent, nous n'avions pas retrouvé cette action antiglobulicide du sérum d'anguille chauffé. Et, d'autre part, nous avions constaté que d'autres sérums globulicides, celui de chien, celui de hérisson, chauffés à 58° pendant 15 min., tout en perdant par cette opération leur pouvoir hémolytique, sur les globules du lapin ou du cobaye par exemple, ne manifestaient non plus aucune propriété antiglobulicide.

Ce sont ces faits négatifs qui nous avaient amenés à conclure que dans un sérum hémolytique, à côté de la toxine, il ne préexiste pas d'antitoxine que ferait apparaître le chauffage [1]. Les observations de MM. Jean Camus et Pagniez montrent que cette conclusion était sans doute trop absolue et nous engagent à remettre en lumière les quelques faits positifs que nous avions obtenus avec le sérum d'anguille. On peut se demander si ces résultats contradictoires ne déposeraient pas en faveur de la thèse de la variation, dans le sang, des alexines et de leurs antagonistes, à l'état normal comme à l'état pathologique, suivant les animaux.

substance toxique une antitoxine ? C'est ainsi qu'il importerait de rappeler cette constatation que nous avons faite, à savoir que le sérum de chien chauffé n'acquiert pas de propriétés antiglobulicides; aux doses où nous l'avons employé de 2 à 4 et même 8 gouttes pour 1 goutte de sérum non chauffé, il n'empêchait pas ce dernier de détruire les globules rouges du cobaye. Or, comme l'action globulicide du sérum normal de chien est exactement la même, à l'intensité près, que celle du sérum d'anguille, puisque la chaleur n'exerce pas la même influence sur le premier que sur le second, c'est apparemment qu'elle ne provoque pas dans celui-ci l'apparition de la propriété antiglobulicide par une modification de la propriété globulicide. On est ainsi conduit à penser qu'à côté de cette dernière préexiste la première; mais normalement l'action antiglobulicide est masquée par l'action globulicide, si puissante; celle-ci abolie par la chaleur, l'autre peut se manifester. La chaleur, en effet, n'altère aucunement la propriété antiglobulicide d'un sérum, soit naturelle, soit acquise (par l'immunisation).

1. *Loc. cit.*

IX

RECHERCHES SUR LE SANG DES SÉLACIENS. ACTION TOXIQUE DU SÉRUM DE TORPILLE (TORPEDO MARMORATA) *

Par **E. GLEY**

Les Murénides, dans le sang desquels A. Mosso a découvert un poison si violent[1], sont des Téléostéens. Dans le sang d'autres poissons trouve-t-on aussi un venin? Prenons, par exemple, les Sélaciens. Parmi eux, il y a tout un groupe particulièrement intéressant au point de vue physiologique, celui des Hypotrèmes, comprenant les raies et les torpilles, c'est-à-dire des poissons électriques.

J'ai constaté que le sang de torpille (*Torpedo marmorata*) contient une substance très toxique pour divers Mammifères : chien, lapin, cobaye[2].

On recueille aisément le sang de cet animal en introduisant une canule dans l'aorte, près du cœur. On centrifuge, on obtient une grande quantité d'un sérum clair, habituellement et très légèrement bleuâtre, qui se conserve sans altération à la glacière, si l'on a pris soin de le recueillir aseptiquement. Pour

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 13 juin 1904, t. CXXXVIII, p. 1547.

1. A. Mosso : Un venin dans le sang des Murénides (*Arch. ital. de Biol.*, 1888, t. X, p. 141-169). Mosso a expérimenté avec le sang d'anguille, de congre et de murène.

2. Ces recherches ont été commencées à la Station biologique d'Arcachon où j'ai été accueilli, par le professeur Jolyet, de la façon la plus aimable. Depuis, il a pris la peine de m'envoyer du sérum dans d'excellentes conditions. Je dois le remercier vivement de cette obligeance.

10 c. c. de sang, on a de 8 à 9 c. c. de sérum. Le sang contient donc peu d'éléments solides. Ce sang, quand il n'a pas été en contact avec les tissus de l'animal, coagule très lentement. Par la centrifugation, on obtient souvent, en réalité, non pas le sérum, mais le plasma. A la longue, il se forme dans ce plasma un caillot en sac. Le plasma coagule abondamment à la température de 56° ; on peut donc admettre qu'il contient beaucoup de matière fibrinogène.

Le sérum de torpille, injecté dans les veines du lapin, tue cet animal à la dose de 1,8 c. c. à 2 c. c. par kilogramme[1]. Le sérum est préalablement dilué dans une égale quantité d'eau salée ou dans une quantité supérieure. A cette dose, les lapins meurent dans un laps de temps qui varie de 8 ou 10 min. (le plus fréquemment) à 40 min. Les principaux accidents consistent en des troubles respiratoires (augmentation de l'amplitude des mouvements respiratoires, dyspnée, quelquefois de la polypnée), de la parésie, un peu d'agitation motrice ; la parésie s'aggrave rapidement et la respiration s'arrête, la sensibilité est conservée jusqu'à la mort ; à l'ouverture immédiate du thorax, on constate que le cœur bat encore.

Avec des doses moindres (1 c. c. à 1,5 c. c. par kilogramme), les animaux présentent des accidents plus ou moins graves (polypnée, parésie, diarrhée, abaissement de la température centrale) qui durent plus ou moins longtemps (en général, 24 h. avec la dose de 1,5 c. c. par kilogramme).

Ce sérum est un peu plus toxique pour le cobaye. La dose de 1,5 c. c. par kilogramme tue en 10 min. (l'injection est faite dans une veine jugulaire) ; avec 1 c. c., les animaux meurent en quelques heures (5 à 6 h.). Les troubles respiratoires et de la motricité sont analogues à ceux que présentent les lapins ; on observe quelques mouvements convulsifs[2] ; la mort est due aussi à l'arrêt de la respiration.

1. Le sérum d'anguille est environ dix fois plus toxique pour le lapin [voir L. Camus et E. Gley : Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille... (*Arch. intern. de Pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305)].

2. Les lapins en présentent aussi parfois, mais cette phase est très brève.

Je n'ai pas déterminé la toxicité pour le chien. Mais j'ai constaté sur cet animal qu'à la dose de 0,7 c. c. par kilogramme le sérum de torpille, injecté dans une veine, amène une chute considérable de la pression sanguine intra-artérielle et une grande diminution de la coagulabilité du sang. Ce sont des effets que produit aussi le sérum d'anguille. Quand la pression s'est un peu relevée, une nouvelle dose la fait de nouveau tomber. Il est possible que l'on obtienne cette diminution de la pression avec des doses plus faibles encore.

Quelques expériences m'ont montré que la grenouille est extrêmement résistante au sérum de torpille. Une grenouille de 64 gr. a parfaitement résisté, n'ayant présenté que de l'accélération passagère des mouvements respiratoires, à l'injection sous-cutanée de 2 c. c. de sérum ; une autre, il est vrai, du poids de 85 gr. (69 gr. si l'on défalque 16 gr. d'œufs), est morte, après avoir reçu la même dose, en trois jours, le train postérieur étant complètement paralysé dès le lendemain.

Le sérum chauffé pendant 15 min. à 57° perd ses propriétés toxiques. Du moins, une quantité un peu supérieure (2 c. c. 4 par kilogramme) à la dose sûrement mortelle chez le lapin et une dose double (3 c. c. par kilogramme) de la dose sûrement mortelle chez le cobaye n'ont pas provoqué d'accidents. On sait que tous les sérums toxiques perdent leur action par le chauffage au-dessus de 55°; c'est là un fait général.

Parmi les propriétés du sérum de torpille, il faut spécialement signaler son pouvoir globulicide. Par là encore, il se rapproche de tous les autres sérums. Les globules du lapin laissent diffuser leur hémoglobine en quelques heures dans une solution isotonique de chlorure de sodium à laquelle on a ajouté du sérum, même dilué à 1/1.000; après 24 h., il y a une légère hémolyse avec la dilution à 1/2.000. Les globules du cobaye sont un peu plus sensibles ; l'hémolyse est nette après 10 h. dans la dilution à 1/2.000; avec 1/4.000, il y a encore une légère hémolyse. Ce sérum est donc très hémolytique. Il l'est beaucoup moins cependant que le sérum d'anguille qui détruit encore les globules du lapin à 1/10.000 et à 1/15.000[1]. Ce sérum, chauffé à

56° pendant 15 m., a perdu cette propriété, même une dilution à 1/10 reste sans effet.

Par des injections répétées et graduellement croissantes de sérum, on peut immuniser le lapin contre l'action toxique. En même temps, lorsque l'immunité est réalisée, le sérum du lapin a acquis la propriété antiglobulicide; une quantité déterminée du sérum de l'animal immunisé protège les globules d'un autre lapin contre l'action hémolytique d'une quantité déterminée du sérum de torpille[2]; la dose antihémolytique nécessaire varie naturellement avec le degré d'immunisation.

Je me propose de rechercher si le sang de la raie, poisson électrique du même groupe, est également toxique, et si le sang d'autres Sélaciens, non électriques, présente ou non la même propriété.

1. Voyez L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*
2. C'est un nouvel exemple d'une réaction directe, *in vitro*, d'une antitoxine sur une toxine (voyez L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*).

X

ACTION HÉMATOLYTIQUE ET TOXICITÉ GÉNÉRALE DU SÉRUM D'ANGUILLE POUR LA MARMOTTE*

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Nous avons montré, il y a quelques années [1], que le sérum d'anguille possède une action hématolytique extrêmement énergique ; chez quelques espèces animales cependant, les hématies résistent fortement à cette action ; telles sont, en particulier, les hématies du hérisson [2] ; nous avons étudié, dans les publications citées ci-dessous, les conditions de cette immunité naturelle.

Il était intéressant de rechercher si d'autres animaux hibernants présenteraient la même immunité. C'est ce que nous avons vu sur la marmotte (*Arctomys Marmota*).

Il faut des dilutions de sérum d'anguille comprises entre 1/50 et 1/20 pour que, dans des solutions de chlorure de sodium isotoniques, l'hémoglobine des globules de marmotte diffuse légèrement au bout de 15 à 20 h. La résistance de ces globules est donc très grande, puisque d'autres rongeurs, le lapin et le cobaye par exemple, laissent encore diffuser leur hémoglobine, comme nous l'avons montré, dans des solutions contenant 1/15.000 de sérum d'anguille.

Les hématies de la marmotte ne sont pas plus résistantes au

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 26 juin 1905, t. CXL, p. 1717.

1. L. Camus et E. Gley : *C. R.*, 31 janvier 1898, p. 428, et *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, 247-305.

2. L. Camus et E. Gley : *C. R.* 24 juillet 1899, p. 231, et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899, t. XIII, 779-787.

sérum de chien qui, cependant, sur les animaux usuels de laboratoire est beaucoup moins globulicide que le sérum d'anguille; elles laissent en effet diffuser leur hémoglobine dans des dilutions de sérum de chien à 1/20-1/10, c'est-à-dire presque aux mêmes doses que le sérum d'anguille.

Ces faits nous ont conduits à étudier comparativement l'action toxique générale de ces deux sérums sur la marmotte. Nous avions vu dans nos recherches antérieures que le hérisson, dont les hématies sont si résistantes, est notablement moins sensible à l'action toxique du sérum d'anguille que le lapin. Ainsi apparaissait chez cet animal une relation entre la résistance spéciale des hématies et la résistance générale de l'organisme. En était-il de même chez la marmotte? Or, en injection intraveineuse[1], le sérum d'anguille s'est montré plus toxique pour cet animal que pour tous ceux sur lesquels on en a jusqu'à présent étudié l'action. Des doses de 0,2 c. c. à 0,1 c. c. par kilogramme amènent en effet la mort en 5 à 6 m.; il en est de même avec les doses de 0,05 c. c. et 0,03 par kilogramme; un animal encore est mort avec une dose de 0,02 c. c. (dix fois moindre que celle qui tue le lapin), mais cette fois en quelques heures; un autre a résisté, sans avoir présenté de troubles, à une dose de 0,01 c. c.

Au contraire, la marmotte résiste parfaitement à l'injection intraveineuse de 5 c. c. et même de 10 c. c. de sérum de chien par kilogramme. Ainsi, quoique l'action globulicide de ce sérum soit presque identique à celle du sérum d'anguille, il n'en existe pas moins entre ces deux liquides des différences profondes qui se manifestent par une différence considérable dans la toxicité générale, puisque nous avons observé des marmottes qui ont résisté à des doses de sérum de chien trois cents fois supérieures à la dose mortelle du sérum d'anguille.

Ces expériences nous ont donc permis de dissocier les propriétés toxiques du sérum d'anguille, mieux que nous n'avions

1. Dans des expériences intéressantes, R. Blanchard (*Soc. de Biol.*, 13 juin 1903, p. 736) a déterminé la toxicité du sérum d'anguille pour la marmotte, mais par injection sous-cutanée; dans cette condition, ce liquide est trois à quatre fois moins toxique qu'en injection intra-veineuse chez le lapin.

pu le faire antérieurement au moyen du chauffage à 56° qui abolit l'action globulicide, mais qui diminue aussi, et dans une très forte mesure, l'action toxique générale. Celle-ci peut être séparée de la propriété hématolytique et, *vice versa*, comme nos expériences le prouvent, la résistance des hématies à ce poison n'implique nullement la résistance de l'organisme en général.

XI

COMPARAISON ENTRE L'ACTION HÉMATOLYTIQUE ET LA TOXICITÉ DU SÉRUM D'ANGUILLE CHEZ LA MARMOTTE (ARCTOMYS MARMOTA) *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Nous avons montré, il y a quelques années[1], la grandeur du pouvoir hématolytique du sérum d'anguille; chez quelques espèces animales cependant, les hématies possèdent une résistance naturelle assez grande à cette action[2]; nous avons spécialement étudié celle des hématies du hérisson.

Il était intéressant de rechercher si d'autres animaux hibernants présenteraient la même immunité. Nous avons fait cette étude sur la marmotte des Alpes.

Nous avons éprouvé la résistance des globules de cet animal par le procédé qui nous a toujours servi dans nos recherches antérieures (méthode de l'isotonie [Hamburger], procédé de Mosso-Viola). Nous avons employé soit le sang en nature, obtenu par la ponction du cœur, soit les globules isolés de ce sang par la centrifugation et lavés quatre fois de suite dans l'eau salée hypertonique.

Tous les animaux sur lesquels nous avons expérimenté étaient à l'état de veille, s'alimentant très bien et en parfaite santé.

* *Arch. intern. de pharmacodynamie et de thérapie*, 1905, t. XV, p. 159-169.

1. L. Camus et E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, p. 428 et *Arch. intern. de pharmacodynamie*, t. V, p. 247-305; 1898.

2. L. Camus et E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 24 juillet 1899, p. 231, et *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XIII, p. 779-787; 1899.

I

Nous n'avons pas connaissance qu'il ait été fait avec le sang de la marmotte des déterminations de la résistance globulaire dans les solutions de chlorure de sodium de concentration diverses. Nous avons donc dû procéder à ces déterminations. Nous avons trouvé que l'hémoglobine ne commence à diffuser que dans la solution à 0,50 — 0,53 °/₀. Nous avons même observé un sang pour lequel il n'y avait un commencement de diffusion que dans une solution à 0,46 °/₀. Voici deux de nos expériences. Les autres seront relatées dans la suite de ce travail, conjointement avec les expériences d'hémolyse, auxquelles elles servaient de témoins.

Expérience I.

Marmotte ♂, 3.050 gr. Dans cette expérience, on a étudié comparativement la résistance des globules lavés et celle du sang total. Dans ce but, nous avons, d'une part, fait tomber du sang du cœur dans une série de solutions de NaCl de concentration variable, et, d'autre part, dans une série de solutions semblables, des globules lavés d'abord trois fois avec une solution de NaCl à 9 °/₀₀, puis une quatrième fois avec une solution à 6 °/₀₀. Observés 24 heures après, les tubes analogues de chaque série 1 et 1′ ne présentaient aucune différence.

	TITRE des solutions en NaCl	
Tubes N° 1 et N° 1′	0,60 p. 100	pas de diffusion.
— N° 2 et N° 2′	0,57 —	pas de diffusion.
— N° 3 et N° 3′	0,53 —	diffusion extrêmement faible.
— N° 4 et N° 4′	0,50 —	— très faible.
— N° 5 et N° 5′	0,47 —	— nette, encore des globules non détruits.
— N° 6 et N° 6′	0,44 —	— plus marquée, des globules non détruits.

EXPÉRIENCE II.

Marmotte ♀, 1.880 gr. On fait tomber dans une série de tubes, renfermant une solution de NaCl à des titres divers, une goutte de sang du cœur.

TITRE de la solution de NaCl	
0,66 p. 100	pas de diffusion.
0,63 —	pas de diffusion.
0,59 —	pas de diffusion.
0,56 —	pas de diffusion.
0,53 —	pas de diffusion.
0,50 —	pas de diffusion.
0,46 —	diffusion très légère.
0,43 —	id.

On voit donc par ces expériences et on verra aussi par celles qui suivront que les hématies de la marmotte ne laissent pas aisément diffuser leur hémoglobine, même dans des solutions salines faibles. Nous pouvons par conséquent considérer les dilutions à 0,60 comme suffisantes pour des études d'hémolyse. Ce sont celles que nous avons employées dans les recherches dont nous allons donner les résultats. Nous avons cependant fait quelques expériences avec des dilutions à 0,56 °/₀, justement pour obtenir les conditions les plus favorables à l'action globulicide du sérum hétérogène.

11

Les globules rouges de la marmotte sont, comme ceux du hérisson, très résistants au sérum d'anguille. Il faut des doses de ce sérum comprises entre 1/50 et 1/20 pour que l'hémoglobine diffuse légèrement, au bout de 15 à 24 heures. Les tableaux ci-dessous le prouvent suffisamment.

EXPÉRIENCE III.

Cette expérience préliminaire a été faite pour comparer l'action du sérum d'anguille sur le sang du lapin à son action sur le sang de marmotte.

Lapin ♀, 4.250 gr. (a accouché le lendemain de sept à huit petits,

tous mort-nés). On fait tomber une goutte du sang du cœur dans la série des tubes ci-dessous contenant une solution de NaCl à 0,66 °/₀ et du sérum d'anguille à des titres variant de un centième à deux millièmes.

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum d'anguille	
0,66 p. 100	1 p. 100	Diffusion dans tous les tubes après 24 heures.
—	1 p. 200	
—	1 p. 400	
—	1 p. 500	
—	1 p. 800	
—	1 p. 1000	
—	1 p. 2000	
0,66 p. 100	tube témoin	Pas de diffusion.

Marmotte ♀, 1.830 gr., complètement éveillée et mangeant régulièrement tous les jours. On fait tomber une goutte de sang du cœur dans une série de tubes identiques à celle employée dans l'expérience ci-dessus.

Vingt-quatre heures après, on constate qu'il n'y a trace d'hémolyse dans aucun des tubes.

L'anguille qui a servi pour ces expériences pesait 550 gr. et la saignée qui avait été de 6,3 c.c. a fourni 3 c.c. d'un sérum légèrement bleuté.

Expérience IV.

Même animal que celui de l'expérience II.

La résistance des globules de cette marmotte au sérum d'anguille a été éprouvée avec les solutions suivantes :

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum d'anguille	
0,66 p. 100	1 p. 10	Très légère diffusion après 24 heures.
—	1 p. 20	Pas de diffusion après 24 heures.
—	1 p. 40	
—	1 p. 80	

Expérience V.

Marmotte ♂, 2.525 gr. On recherche simultanément avec le sang du cœur la résistance globulaire pour des solutions de NaCl de titres divers et pour différentes dilutions de sérum d'anguille :

Titre de la solution de NaCl		Titre de la solution de NaCl	Titre de la solution en sér. d'ang.	
0,56 p. 100	Pas de diffusion.	0,56 p. 100	1 p. 5	Forte diffusion, tous les globules détruits.
0,53 —	Id.	0,56 —	1 p. 10	Id.
0,50 —	Très légère diffusion.	0,56 —	1 p. 20	Légère diffusion, beaucoup de globul. intacts.
0,46 —	Légère diffusion.			
0,43 —	Diffusion très nette, beaucoup de globules non détruits.			

Expérience VI.

Marmotte ♂, 2.887 gr. Comme dans l'expérience précédente, le sang du cœur est soumis à la double recherche :

Titre de la solution de NaCl		Titre de la solution de NaCl	Quantité de sérum d'anguille	
0,56 p. 100	Pas de diffusion.	0,56 p. 100	1 p. 5	Très forte diffusion, tous les globul. détruits.
0,53 —	Traces de diffusion.	0,56 —	1 p. 10	Id.
0,50 —	Très légère diffusion.	0,56 —	1 p. 20	Très légère diffus.
0,46 —	Légère diffusion.			
0,43 —	Diffusion marquée, beaucoup de globules non détruits.			

Expérience VII.

Marmotte ♀, 1.445 gr. Mêmes recherches que ci-dessus :

Titre de la solution de NaCl		Titre de la solution de NaCl	Quantité de sérum d'anguille	
0,56 p. 100	Pas de diffusion.	0,56 p. 100	1 p. 5	Très forte diffusion, tous les globul. détruits.
0,53 —	Légère diffusion.	0,56 —	1 p. 10	Id.
0,50 —	Id.	0,56 —	1 p. 20	Trés légère diffus.
0,46 —	Diffusion marquée.			
0,43 —	Diffusion encore plus marquée.			

Expérience VIII.

Marmotte ♂, 2.090 gr. Mêmes recherches que ci-dessus :

TITRE de la solution de NaCl		TITRE de la solution de NaCl	QUANTITÉ de sérum d'anguille	
0,55 p. 100	Pas de diffusion.	0,56 p. 100	1 p. 5	Tous les globules détruits.
0,53 —	Diffusion très légère.	0,56 —	1 p. 10	Id.
0,50 —	Id.	0,56 —	1 p. 20	Diffusion légère.
0,46 —	Diffusion légère.			
0,43 —	Id.			

Les expériences V, VI, VII et VIII ont été faites avec le même sérum fourni par le mélange du sang de deux anguilles, l'une de 1.120 gr. et l'autre de 970 gr.

Expérience IX.

Marmotte ♀, 2,751 gr. On fait tomber une goutte du sang du cœur dans la série suivante de solutions de sérum d'anguille.

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum d'anguille	
0,60 p. 100	1 p. 10	hémolyse très forte.
0,60 —	1 p. 20	— marquée.
0,60 —	1 p. 50	— légère.
0,60 —	1 p. 100	trace d'hémolyse.

Expérience X.

Le sang du cœur d'une autre marmotte du poids de 2.085 gr. a été éprouvé avec le même sérum d'anguille (anguille de 510 gr.) et a donné des résultats identiques.

L'action hématolytique du sérum d'anguille est donc très faible pour la marmotte. Rappelons que, d'après nos expériences antérieures (citées au début de ce travail), ce sérum est souvent encore hématolytique pour le lapin aux doses de 1/15.000 à 1/20.000 et pour le cobaye à peu près aux mêmes doses.

III

Cette résistance des hématies de la marmotte au sérum d'anguille est-elle un phénomène général, que l'on observe avec tous les sérums globulicides? Nous n'avons fait cette comparaison qu'avec le sérum de chien. Or, la différence entre le pouvoir hématolytique de ce sérum et celui du sérum d'anguille n'est pas grande; le premier est en effet globulicide à 1/20 — 1/10, c'est-à-dire aux mêmes doses presque que le second. Nous avons même observé un sang de marmotte dont l'hémoglobine ne commençait à diffuser qu'avec une dose de 1/10 de sérum d'anguille (expér. IV). Dans un autre cas, l'hémolyse fut identique (légère) avec la même dose (1/20) de l'un et de l'autre sérum.

Citons quelques expériences.

Expérience XI.

Marmotte, 2.250 gr. On prend du sang par ponction du cœur; les globules, lavés deux fois dans une solution de NaCl à 9 ‰, puis une fois dans une solution de NaCl à 6 ‰, sont mis en contact avec les solutions suivantes :

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum d'anguille	
0,60 p. 100	1 p. 10	forte hémolyse, encore quelques globules au fond.
0,60 —	1 p. 20	hémolyse moins marquée.
0,60 —	1 p. 50	— nette.
0,60 —	1 p. 100	— très légère.

La résistance de ces mêmes globules vis-à-vis du sérum de chien a été recherchée d'autre part avec les solutions suivantes :

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum de chien	
0,60 p. 100	1 p. 10	trace d'hémolyse au fond du tube au voisinage des globules.
0,60 —	1 p. 20	Id.
0,60 —	1 p. 50	pas de diffusion.
0,60 —	1 p. 100	
0,60 —	1 p. 200	
0,60 —	1 p. 400	

Expérience XII.

La marmotte de l'expérience précédente, 5 jours après, a fourni des globules qui ont été lavés deux fois avec une solution de NaCl à 0,9 °/₀ et deux fois avec une solution à 0,66 °/₀. Les globules ont été ajoutés aux solutions suivantes :

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum d'anguille	
0,66 p. 100	1 p. 20	hémolyse légère.
0,66 —	1 p. 50	hémolyse très légère.
0,66 —	1 p. 100	pas de diffusion.
0,66 —	1 p. 200	pas de diffusion.

Ces mêmes globules lavés ont été éprouvés avec du sérum de chien fraîchement préparé :

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum de chien	
0,66 p. 100	1 p. 10	hémolyse nette, tous les globules détruits.
0,66 —	1 p. 20	hémolyse légère, il reste un dépôt de globules.
0,66 —	1 p. 50	trace d'hémolyse.
0,66 —	1 p. 100	pas d'hémolyse.
0,66 —	1 p. 200	pas d'hémolyse.

Expériences XIII et XIV.

Marmotte ♂, 2.065 gr. On fait tomber une goutte de sang dans les solutions suivantes renfermant des quantités variables de sérum de chien.

TITRE de la solution de NaCl	TITRE de la solution en sérum de chien	
0,66 p. 100	1 p. 10	hémolyse légère après 24 heures.
0,66 —	1 p. 20	trace d'hémolyse —
0,66 —	1 p. 50	pas d'hémolyse.
0,66 —	1 p. 100	pas d'hémolyse.

Une expérience semblable avec le même sérum et avec le sang d'une marmotte ♀ de 2.435 gr. a donné des résultats identiques.

IV

Cette quasi-identité de l'action globulicide des sérums d'anguille et de chien nous a engagés à étudier comparativement la toxicité générale de ces deux sérums sur la marmotte. D'autant plus que nous avions vu autrefois que le hérisson, dont les hématies sont si résistantes, ne succombe qu'à des doses de sérum d'anguille plus fortes que celles qui tuent le lapin et le cobaye[1]. Les expériences dont il s'agit là avaient eu pour but la détermination de la dose qui tue le plus rapidement possible (dose toxique la plus efficace) en injection intra-veineuse; elles furent faites en hiver, sur des animaux mal réveillés; nous n'avons pu, dans ces conditions, que déterminer la dose amenant la mort en moins d'une demi-heure; nous n'avions toutefois pas dépassé la dose de 2 c.c. par kilogramme d'animal (soit dix fois la dose presque immédiatement mortelle pour le lapin). Dans d'autres expériences faites en été sur des animaux très vifs, avec la dose de 1 c.c. par kilogramme, c'est-à-dire cinq fois plus forte que celle qui tue habituellement le lapin en 10 à 15 m.; avec des doses analogues à celles du lapin (0,2 c.c. — 0,4 c.c. par kilogramme), nous avons vu les animaux ne mourir qu'après 1 à 15 h. En somme, il y a chez le hérisson une relation entre la résistance spéciale des hématies à l'ichtyotoxine et la résistance générale de l'organisme à ce poison. La même relation existe-t-elle chez la marmotte?

Pour faire cette étude, nous avons toujours, comme dans nos expériences antérieures sur la toxicité du sérum d'anguille, choisi pour voie d'introduction du poison la voie intra-veineuse dont il est inutile de rappeler les avantages dans des recherches de ce genre.

Dans une série d'expériences intéressantes, R. Blanchard[2] a déjà déterminé la toxicité du sérum d'anguille pour la mar-

1. L. Camus et E. Gley : *Arch. intern. de Pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 275 (ci-dessus p. 51) et *C. R. de la Soc. de Biol.*, 29 janvier 1898, p. 129 (ci-dessus p. 7).
2. R. Blanchard : *C. R. de la Soc. de Biol.*, 13 juin 1903, p. 736.

motte, mais par injection sous-cutanée ; il a vu que cet animal ne présente pas une résistance particulière ; en effet, le sérum n'est guère que trois à quatre fois moins toxique pour lui que pour le lapin, mais il faut tenir compte de cette donnée, que la comparaison est faite entre des animaux (lapins) intoxiqués par la voie veineuse et d'autres (marmottes) par la voie sous-cutanée.

Les observations que nous allons relater montrent que, en injection intra-veineuse, et en dépit de la résistance que présentent au poison les hématies de la marmotte, le sérum d'anguille est beaucoup plus toxique pour cet animal que tous ceux sur lesquels jusqu'à présent on a recherché la toxicité de ce liquide. Voici ces faits :

Expérience XV.

Marmotte, 1.760 gr. Injection intra-veineuse de 0,5 c. c. de sérum d'anguille dilué dans 1,5 c. c. d'eau salée à 8 °/₀₀, soit 0,28 c. c. par kilogramme. Ce sérum est celui qui a servi dans l'expérience I pour la recherche de l'action globulicide.

La mort est arrivée en 2 minutes ; on a noté seulement quelques gémissements, une miction, puis l'arrêt de la respiration. Tout de suite après la cessation des mouvements respiratoires, on a recueilli du sang dans la veine cave inférieure. Ce sang s'est coagulé et le sérum qui a exsudé était très clair et ne renfermait pas trace d'hémoglobine.

Expérience XVI.

Marmotte ♂, 2.525 gr., la même qui a servi pour l'expérience V ; on fait une injection dans la veine saphène interne de 0,5 c. c. de sérum d'anguille dilué dans 2,5 c. c. d'eau salée à 8 °/₀₀, soit 0,2 c. c. par kilogramme ; l'injection est poussée en une minute ; on note de l'agitation à la fin de l'injection, puis l'arrêt de la respiration. Aussitôt que l'animal est détaché, la respiration reprend lentement, le cœur bat ; miction 3 minutes après la fin de l'injection ; grand bâillement (respirations agoniques). Le cœur et la respiration sont définitivement arrêtés 5 minutes après l'injection.

A l'autopsie, on trouve le sang encore liquide dans le cœur. Le poumon est très congestionné et présente les caractères macroscopiques de l'œdème pulmonaire[1].

1. Le sujet de l'expérience suivante et celui de l'expérience XIX ont présenté la même lésion pulmonaire. Il est possible que la mort rapide des marmottes,

Le sérum d'anguille de cette expérience avait servi dans les expériences V, VI, VII et VIII.

Expérience XVII.

Marmotte ♂, 2.520 gr. On injecte dans la veine saphène interne 0,1 c. c. de sérum d'anguille par kilogramme, soit en tout 0,25 ; aussitôt après l'injection qui a été poussée en une demi-minute, l'animal fait des mouvements de mâchonnements ; il est pris de mouvements convulsifs et la respiration devient très ralentie. Détaché deux minutes après l'injection, il reste sur le flanc avec une respiration rare et stertoreuse. Deux minutes plus tard, respirations agoniques, miction, disparition du réflexe cornéen. Mort six minutes et demie après l'injection, Contractions musculaires après la mort.

A l'autopsie, faite immédiatement, ventricules arrêtés, oreillettes battant encore ; les poumons sont très congestionnés et laissent exsuder, quand on les coupe, un liquide spumeux ; foie très congestionné.

Expérience XVIII.

Marmotte ♀, 2.751 gr. Injection intra-veineuse de 0,05 c. c. de sérum d'anguille par kilogramme (sérum fraîchement préparé, dont on éprouve l'action hématolytique sur du sang du même animal, pris dans le cœur avant l'injection ; pour les résultats, voyez expér. IX). Une minute et demie après l'injection, l'animal est pris de frémissements musculaires généralisés ; à la deuxième minute, respirations agoniques, mictions ; à la troisième minute, mort.

A l'autopsie, rien de particulier. Les poumons n'offrent pas l'aspect de ceux des animaux précédents. Il n'y a pas de caillots dans le cœur. Le sang est liquide et se coagule *in vitro*.

sous l'influence d'une injection intraveineuse de sérum d'anguille, soit due à l'œdème des poumons. Si nous avions eu quelques animaux de plus à notre disposition, nous aurions certainement recherché le mécanisme de la mort ; la question mérite d'être examinée de près.

Nous avons pu faire cependant trois expériences sur des marmottes ♀, pesant respectivement 3.600, 3.020 et 2.000 gr., dans lesquelles nous avons pratiqué la respiration artificielle dès les tout premiers symptômes de l'intoxication ; chacun de ces animaux avait reçu dans la veine saphène interne la dose sûrement mortelle de 0,5 c. c. par kilogr. Malgré la respiration artificielle, deux d'entre eux sont morts en 5 minutes et le troisième en 2 minutes ; et nous avons constaté *de visu* que la mort se produisait par arrêt du cœur ; les oreillettes continuent à battre quelques minutes après que les ventricules ont cessé de se contracter ; au moment de la mort, les ventricules sont dilatés, puis très rapidement ils se contractent au maximum. Sur un de ces animaux, nous avons trouvé de l'œdème des poumons.

Expérience XIX.

Marmotte ♂, 2.585 gr. Injection intra-veineuse de 0,03 c.c. de sérum d'anguille par kilogramme. Une minute après l'injection, dyspnée très forte, puis miction ; l'animal reste sur le flanc. Dans la dernière minute qui suit, les membres se raidissent convulsivement ; respiration agonique. Trois minutes après l'injection, le réflexe cornéen se produit encore ; deux minutes plus tard, il est aboli.

A l'autopsie, faite immédiatement, œdème pulmonaire.

Expérience XX.

Marmotte ♀, 2.045 gr. Injection intra-veineuse de 0,02 de sérum par kilogramme. Quatre à cinq minutes après, commencent les troubles respiratoires (dyspnée) et l'animal se paralyse progressivement ; il devient bientôt incapable de se mouvoir ; la sensibilité est conservée. Par moments, crise de dyspnée, allant jusqu'à la respiration agonique. Une demi-heure après l'injection, la paralysie est totale. L'animal est mort en 1 h. 1/2 ou 2 h.

Expérience XXI.

Marmotte de 2.085 gr. Injection intra-veineuse de 0,01 c.c. de sérum d'anguille par kilogramme. L'animal n'a présenté aucun accident, ni immédiatement, ni dans les jours qui ont suivi l'injection ; il est encore vivant, très bien portant. (Pour l'action du sérum sur les globules de cet animal, voyez expér. X.)

Ainsi, avec des doses de 0,3 c.c. à 0,2 par kilogramme de poids brut, les marmottes sont mortes en 2 — 5 m. par arrêt de la respiration ; avec une dose de 0,1 c.c. par kilogramme, un animal est mort de la même façon, après avoir présenté quelques mouvements convulsifs, en 6 m. 30 sec. ; avec une dose moitié moindre, 0,05 c.c. par kilogramme, un animal est mort en 2 m. ; avec une dose de 0,03 c.c. par kilogramme, un autre a succombé en 5 m. ; un autre a résisté 1 ou 2 h. à une dose de 0,02 c.c. ; enfin à une dose de 0,01 c.c., un dernier a parfaitement résisté, sans avoir présenté ultérieurement le moindre trouble. La dose toxique, d'après ces expériences, est donc pour la marmotte de 0,03 c.c. par kilogramme. La très grande toxicité du sérum

d'anguille, pour les animaux de cette espèce, ressort donc très nettement de nos observations.

Voyons maintenant quelle est la toxicité du sérum de chien. Nous avons injecté dans les veines des doses 160 et 330 fois plus fortes de ce sérum, soit 5 et 10 c. c. par kilogramme (l'action hématolytique du sérum employé avait été préalablement constatée); les animaux ont survécu sans présenter le moindre trouble soit immédiat ou consécutif.

V

Ces faits démontrent que l'action hématolytique du sérum d'anguille peut être dissociée de son action toxique générale. Dans nos recherches antérieures, ces deux actions nous avaient toujours paru à peu près parallèles ; très globulicide pour le lapin et pour le cobaye, ce sérum est également très toxique pour ces animaux; inversement, les hématies du hérisson et celles du pigeon sont très résistantes, et ces animaux ne succombent pas aux doses qui sont mortelles pour le lapin et pour le cobaye. Mais voici des animaux pour lesquels ce sérum, très peu hémato-lytique, est extrêmement toxique. Ces recherches sur la marmotte nous ont donc permis de dissocier les propriétés toxiques du sérum d'anguille mieux que nous n'avions pu le faire antérieurement, au moyen du chauffage de ce sérum qui supprime l'action globulicide, mais ne supprime pas absolument, diminue cependant beaucoup, l'action toxique générale[1].

Il nous semble qu'il en résulte aussi que l'immunité naturelle est un phénomène complexe. La résistance offerte par un tissu donné à une toxine n'implique pas la résistance de tous les

1. Sur la marmotte, le sérum d'anguille chauffé pendant 20 minutes à la température de 55° est sans action aucune. Nous avons en effet injecté à un animal 0,5 c. c. par kilogr., soit seize fois la dose mortelle, et à un autre animal 1,4 c. c. par kilogr., soit quarante-six fois la dose mortelle sans observer le moindre accident. De ce fait, que le chauffage supprime à la fois la toxicité pour les globules et la toxicité générale du sérum d'anguille, on peut induire qu'il n'y a pas dans le sérum plusieurs substances toxiques, à moins qu'on ne

autres tissus. Dans le cas dont nous nous sommes occupés, on voit que les éléments figurés du sang présentent une résistance exceptionnelle, élective, peut-on dire, à l'ichtyotoxine, alors que celle-ci porte néanmoins en même temps une atteinte profonde à d'autres tissus essentiels à la vie. De même donc que tous les tissus ne sont pas frappés également et également vite par un poison, minéral ou organique, de même tous ne sont pas également résistants à une toxine. On observe des immunités électives, comme il y a des actions toxiques électives.

suppose que la chaleur détruit en même temps toutes les substances toxiques qui s'y trouveraient. Il resterait à voir, il est vrai, si l'on n'obtiendrait pas quelques phénomènes toxiques en injectant des quantités plus considérables encore que celles que nous avons employées; sur le cobaye (voy. *Arch. intern. de pharmacodynamie et de thérapie*, t. V, p. 258 [ci-dessus p. 31]) nous avons noté quelquefois des accidents passagers et d'ailleurs peu graves avec des doses de sérum chauffé 50 fois plus fortes que la dose mortelle de sérum normal.

XII

HYPERTROPHIE EXPÉRIMENTALE DU CŒUR

Par **E. GLEY**

La très intéressante observation de M. Aubertin [1] m'engage à signaler quelques exemples d'hypertrophie du cœur, constatés au cours d'expériences d'immunisation contre divers sérums toxiques, le sérum d'anguille et le sérum de torpille.

Chez des lapins ayant reçu, dans l'espace d'un mois, quatre ou cinq doses de l'un de ces sérums, suffisant à les immuniser contre une dose sûrement mortelle, ces animaux ayant été sacrifiés en vue de recherches diverses, j'ai, presque chaque fois que j'ai examiné leur cœur, trouvé cet organe hypertrophié. Je l'ai plusieurs fois pesé, frais et vidé de sang [2], et j'ai noté des poids de 8 à 10 gr. Le cœur des lapins normaux, d'un poids moyen de 2 kilogrammes, pèse, en général, 5 à 6 gr. De plus, plusieurs de ces cœurs présentaient des altérations macroscopiques évidentes et souvent le péricarde contenait du liquide.

Cette hypertrophie, d'origine toxique, dépend-elle de troubles de la mécanique circulatoire? L'injection d'une dose toxique de sérum, plus ou moins voisine de la dose mortelle, détermine un abaissement de la pression artérielle, ce qui n'est guère favo-

* *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1907, t. LXIII, p. 208.

1. Il s'agissait d'une observation de lapin soumis pendant plusieurs mois à une intoxication absinthique lente; le cœur de cet animal pesait 22 grammes. (*Note ajoutée.*)

2. Le cœur est pesé complet, oreillettes et ventricules, avec la partie originelle des gros vaisseaux. Dans ces conditions, Krause, dans son *Anatomie des Kaninchens,* dit que le cœur pèse en moyenne 4 gr. 5.

rable à cette hypothèse. Il est vrai que l'étude des modifications cardio-vasculaires, tenant à des injections subtoxiques répétées, telles qu'on les pratique en vue de l'immunisation, n'a pas été faite. En l'absence des renseignements que pourrait fournir cette étude, on est tenté de penser que l'altération signalée peut être causée par des lésions rénales; les injections de sérum d'anguille déterminent, en effet, de graves lésions des reins, comme nous l'avons montré, L. Camus et moi, il y a une dizaine d'années[1]; l'étude histologique de ces lésions a d'ailleurs été très bien faite par notre collègue et ami A. Pettit[2].

Quoi qu'il en soit, on remarquera qu'il peut se produire, au cours de l'immunisation contre des sérums toxiques, des réactions qui sont loin d'être favorables à l'organisme. C'est une notion d'ailleurs qui ressort aussi des recherches que Charrin et Gley ont poursuivies de 1891 à 1896 sur l'influence tératogène des produits microbiens (*Soc. de Biologie*, 1891-1896 et *Arch. de physiol.*, 1893-1896).

1. *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, t. CXXVI, p. 428, et *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305.
2. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 19 mars 1898, p. 320, et *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1901-1902, t. VIII, p. 409-428.

XIII

DE L'ACTION DES ICHTYOTOXINES SUR LE SYSTÈME NERVEUX DES ANIMAUX IMMUNISÉS CONTRE CES SUBSTANCES. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ *

Par **E. GLEY**

Dans plusieurs notes présentées à l'Académie[1], nous avons étudié, L. Camus et moi, l'immunité naturelle et acquise contre l'action toxique du sérum d'anguille; nous avons montré, entre autres faits, que le sérum sanguin des animaux immunisés a acquis une propriété antihémolytique, c'est-à-dire qu'il s'oppose *in vitro* et *in vivo* à l'action globulicide du sérum d'anguille; que ce mécanisme, en lequel consiste essentiellement l'immunité acquise, est très différent de celui de l'immunité naturelle, qui tient à une propriété cellulaire, à une résistance naturelle des hématies au poison, chez diverses espèces animales; qu'il est possible de superposer à cette immunité naturelle ou *cytologique* l'immunité *humorale*, etc.

Pour l'étude de l'immunité en général, c'est une question importante de savoir si et dans quelle mesure tous les organes qui subissent l'action d'une toxine quelconque, poison bactérien,

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 9 décembre 1907, t. CXLV, 1210.

1. L. Camus et E. Gley : De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, t. CXXVI, p. 428). — Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'anguille (*Ibid.*, 8 août 1898, t. CXXVII, p. 330). — Expériences concernant l'état réfractaire au sérum d'anguille. Immunité cytologique (*Ibid.*, 24 juillet 1899, t. CXXIX, p. 231). — Action hématolytique et toxicité générale du sérum d'anguille pour la marmotte (*Ibid.*, 26 juin 1905, t. CXL, p. 1717).

venin ou sérum toxique, sont devenus résistants à cette action, chez les animaux immunisés [1]. Comment se comporte à cet égard le système nerveux pour lequel des sérums toxiques, tels que le sérum d'anguille, sont si particulièrement nocifs? J'ai procédé à cette recherche de la façon suivante. La méthode employée peut évidemment être appliquée à l'étude d'autres toxines.

Connaissant la toxicité de ce sérum en injection intra-veineuse chez le lapin [2], j'ai déterminé cette toxicité sur le même animal en injectant le sérum directement dans le liquide céphalo-rachidien, à travers la membrane occipito-atloïdienne [3]; j'ai ensuite cherché si, chez des animaux préalablement immunisés, cette toxicité n'est plus la même. Voici les résultats essentiels de ces expériences.

Le sérum d'anguille, introduit par cette voie, est au moins dix fois plus toxique que par la voie veineuse, car il suffit de 0,02 c. c. par kilogramme (au lieu de 0,2 c. c.) pour tuer un lapin en un laps de temps variant de 5-10 m. à 1 ou 2 h,; si le sérum est frais et très actif, il suffit même de 0,01 c. c. par kilogramme.

Les principaux accidents sont les suivants : après une courte période d'excitation, l'animal, paralysé ou parésié, tombe sur le flanc et, dans cette position, présente des mouvements cloniques plus ou moins violents, de la polypnée, puis de la

1. Nous avons montré, en 1893, Charrin et moi (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 25 novembre 1893, p. 921), que la toxine pyocyanique paralyse les appareils nerveux vaso-dilatateurs, chez les animaux vaccinés comme chez les normaux. En 1898, Em. Roux et A. Borrel (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1898, t. XII, p. 225-239) ont constaté ce fait très intéressant que les lapins immunisés contre le tétanos sont rendus aussi facilement tétaniques que les animaux normaux, par injection d'une minime quantité de toxine tétanique dans le cerveau même; ainsi le cerveau d'un animal immunisé n'a pas l'immunité.

2. Voir sur ce point L. Camus et E. Gley : Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise (*Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247- 305).

3. C. Delezenne, dans un travail sur les sérums névrotoxiques (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1900, t. XIV, 686-704), a déterminé la toxicité du sérum d'anguille en injection intra-cérébrale, d'après la technique employée par Roux et Borrel (*Ibid.*, 1898) pour l'étude de la toxine tétanique, c'est-à-dire en injectant le liquide en plein tissu, dans la région frontale, par un orifice fait à la paroi cranienne; il avait trouvé que par cette voie le sérum est cinquante fois plus toxique qu'en injection intra-veineuse. (*Note ajoutée.*)

dyspnée, du myosis, de la salivation. La mort arrive par arrêt respiratoire.

Or, chez les animaux immunisés à la suite d'injections intra-veineuses de petites doses de sérum d'anguille, les accidents sont les mêmes et se terminent par la mort dans les mêmes délais. Un fait à noter, c'est que chez un seul de ces animaux on a constaté du myosis; les autres n'en ont pas présenté. Cependant le myosis est un des signes les plus rapides et les plus sûrs de l'intoxication par le sérum d'anguille. Il y aurait donc immunité pour cet accident ou immunisation légère du système nerveux se traduisant par cette résistance à l'une des actions de la *neurotoxine* qui se trouve dans le sérum d'anguille.

Je dois signaler deux exceptions constatées au cours de ces expériences. Un lapin, ayant reçu 0,01 c. c. par kilogramme, a survécu après avoir présenté durant 1 h. les phénomènes convulsifs, les troubles respiratoires et le myosis qui sont de règle. Il ne devait être cependant que faiblement immunisé, n'ayant reçu que deux injections intra-veineuses du sérum toxique, ce qui, d'après nos expériences antérieures, est insuffisant pour amener l'animal à un degré élevé d'immunisation. Il s'est agi probablement ici d'un animal particulièrement résistant. L'autre exception concerne un lapin dont l'immunité a été éprouvée par une injection intra-veineuse, sûrement mortelle, à laquelle il résista; cet animal reçoit, sous la membrane occipito-atloïdienne, 0,01 c. c. de sérum par kilogramme; il présente pendant près de 1 h. les accidents habituels, puis il se remet; 2 jours après, on lui injecte 0,02 c. c. de sérum; il meurt en 9 m. 30 sec. (sans avoir eu de myosis).

Il ne semble pas que ces deux observations puissent restreindre la conclusion générale qui ressort de toutes ces expériences, à savoir que le système nerveux central des animaux immunisés contre le sérum d'anguille n'a pas acquis l'immunité ou, du moins, n'acquiert qu'une très faible immunité. Celle-ci paraît donc ne se manifester que lorsque la toxine pénètre dans le sang, où elle est neutralisée par l'antitoxine formée dans l'organisme au cours de l'immunisation ou dont elle disparaît en vertu de quelque autre processus qu'il n'y a pas lieu d'examiner ici.

J'ai fait des recherches semblables avec le sérum de torpille, dont j'ai antérieurement montré les actions toxiques[1].

La toxicité de ce sérum, injecté par la voie intra-rachidienne, est aussi dix fois plus grande environ que sa toxicité en injection intra-veineuse (0,2 c. c. par kilogramme au lieu de 2 c. c.). Les accidents consistent surtout en attaques convulsives, toniques et cloniques, dyspnée, myosis, salivation; les phénomènes paralytiques sont plus rares, sauf quand les animaux ont reçu une faible dose permettant une survie de plusieurs jours. Il se développe alors une affection médullaire, caractérisée par de la parésie, un épuisement se produisant rapidement quand on force l'animal à se déplacer et tel que celui-ci tombe alors paralysé, une démarche spasmodique, etc. Je n'ai pu faire qu'un très petit nombre d'expériences sur des animaux immunisés[2]; les accidents ont été les mêmes et la mort est survenue dans des délais analogues.

D'autre part, les animaux qui ont reçu à plusieurs reprises dans le liquide céphalo-rachidien de petites doses de sérum de torpille ne résistent pas à la dose toxique. Il ne semble pas que l'immunisation puisse se faire par cette voie. — J'ai d'ailleurs entrepris quelques essais semblables d'immunisation du système nerveux contre le sérum d'anguille; l'insuccès, jusqu'à présent, a été le même. Ce qu'il n'est pas sans intérêt de constater au point de vue des mécanismes de l'immunisation.

1. E. Gley : Recherches sur le sang des Sélaciens. Action toxique du sérum de torpille (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, 13 juin 1904, t. CXXXVIII, p. 1547 [voy. ci-dessus p. 102]).

2. Les expériences d'immunisation demandent, en effet, un assez long temps. Or, malgré toutes les précautions d'asepsie et de conservation au froid, le sérum de torpille perd graduellement de sa toxicité. Ces expériences ne pourraient être poursuivies dans les conditions nécessaires d'exactitude que dans un laboratoire maritime. — Je profite de l'occasion qui m'est offerte pour remercier M. le Dr Sellier, directeur adjoint de la Station biologique d'Arcachon, à l'obligeance duquel je dois le sérum de torpille dont j'ai eu besoin.

XIV

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ. — DE L'ACTION DU SÉRUM DE TORPILLE SUR LE SYSTÈME NERVEUX DES ANIMAUX IMMUNISÉS CONTRE CE SÉRUM *

Par **E. GLEY**

Au point de vue du mécanisme de l'immunité, c'est une question importante de savoir si tous les organes qui subissent l'action d'une toxine quelconque, poison bactérien, venin, sérum toxique, sont devenus résistants à cette action chez les animaux immunisés. J'ai entrepris l'étude de cette question en me servant pour cela de deux sérums toxiques dont je me suis déjà beaucoup occupé, le sérum d'anguille et celui de torpille [1], et au moyen d'une méthode déjà connue en pharmacodynamie, mais qui n'a pas encore été systématiquement employée et qui mériterait de l'être, la méthode des injections dans le liquide céphalo-rachidien.

* *C. R. de l'Assoc. franç. pour l'avancement des sc.*, Congrès de Clermont-Ferrand, 37e session, p. 608-612, 8 août 1908.

1. L. Camus et E. Gley : De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action. *C. R.*, t. CXXVI, p. 428, 31 janvier 1898; — Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'Anguille. *Ibid.*, t. CXXVII, p. 330, 8 août 1898; — Expériences concernant l'état réfractaire au sérum d'anguille. Immunité cytologique. *Ibid.*, t. CXXIX, p. 231, 24 juillet 1899; — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise. *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305, etc.

E. Gley : Recherches sur le sang des Sélaciens. Action toxique du sérum de torpille. *C. R.*, t. CXXXVIII, p. 1547, 13 juin 1904.

Quand on a à éprouver des substances dont une des caractéristiques ou le caractère essentiel est leur action sur le système nerveux central, cette méthode fournit, en effet, des résultats sûrs et précis, appliquée sur des animaux tels que le chien et le lapin, chez lesquels il est aisé de pratiquer une ou plusieurs injections par la membrane occipito-atloïdienne sans léser les centres nerveux, et après que l'on a laissé s'écouler une quantité de liquide céphalo-rachidien correspondant à peu près à la quantité de liquide injecté.

Je ne m'occuperai, dans ce travail, que du sérum de torpille. Je renvoie pour le sérum d'anguille à la note que j'ai publiée dans les *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*[1] l'année dernière.

J'indiquerai d'abord les effets du sérum de torpille en injection dans le liquide céphalo-rachidien, puis les effets de ce même sérum chez les animaux préalablement immunisés contre ledit sérum, et enfin les effets de ces injections chez des animaux qui ont reçu préalablement, par la même voie, des quantités déterminées de sérum antitoxique. — Toutes les expériences ont été faites sur le lapin.

I. — Abstraction faite des variations imprévues de toxicité dépendant des animaux qui ont fourni le sérum ou de la sensibilité particulière de quelques animaux d'expérience et de diverses causes de variation plus ou moins évitables, tenant, par exemple, à l'affaiblissement d'action dû au vieillissement ou à un manque de précautions dans la conservation, la toxicité du sérum de torpille injecté par la voie indiquée est en moyenne dix fois plus grande que la toxicité en injection intra-veineuse (0,2 c. c. par kilogramme au lieu de 2 c. c.). Les accidents débutent 2 ou 3 min. après l'injection; ce sont des accidents respiratoires, polypnée et dyspnée, qui éclatent en même temps que des désordres du système nerveux central, consistant en

1. E. Gley : De l'action des ichtyotoxines sur le système nerveux des animaux immunisés contre ces substances. Contribution à l'étude de l'immunité. *C. R.*, 9 décembre 1907 (voy. ci-dessus p. 125).

impulsions motrices; celles-ci sont caractérisées par des mouvements de propulsion (courses plus ou moins rapides), des sauts en hauteur, quelquefois des mouvements de manège, plus rarement de rotation sur l'axe, assez souvent des attaques cloniques, rarement toniques; on observe aussi du myosis qui va en s'exagérant, de l'exophtalmie (qui n'est pas constante), de la salivation. Cette phase d'excitation est suivie d'une phase de paralysie ou de parésie plus ou moins longue, suivant la dose injectée. Les animaux meurent en des laps de temps très différents, variant de 10 min. (très rarement moindres) à une ou plusieurs heures. Quand la dose n'est pas suffisante pour amener la mort immédiate, les accidents paralytiques dominent et durent plusieurs jours, quelquefois même de 15 à 20 jours; le plus souvent, l'animal est d'abord complètement paralysé, puis cette paralysie s'atténue, il n'y a plus de parésie; dans ce dernier état, quand on force l'animal à se déplacer, il se fatigue rapidement et, après quelques mouvements, il tombe épuisé. La température, le lendemain de l'injection, est très basse : j'ai relevé des températures de 30 à 33°; dans les jours qui suivent, elle se relève, mais sans revenir jamais à la normale. La perte de poids est considérable, dès le lendemain de l'injection, de 100 à 200 gr.

II. — Chez les animaux préalablement immunisés contre le sérum de torpille par des injections intra-veineuses répétées de petites doses de ce sérum (ces animaux résistaient à une dose toxique injectée dans une veine), l'injection dans le liquide céphalo-rachidien de la quantité ordinaire provoque les mêmes accidents que ceux qui viennent d'être décrits et la mort dans les délais habituels.

Ainsi, quand le poison est porté directement sur les cellules nerveuses chez les animaux immunisés, rien n'empêche son action de se produire. Si ces animaux ne manifestent pas les troubles nerveux caractéristiques, quand le poison est injecté dans le sang, ce n'est donc pas parce que leur système nerveux a acquis une résistance spécifique, c'est parce que la toxine, en pénétrant par la voie sanguine dans l'organisme, y rencontre

une antitoxine qui la neutralise et en empêche les effets, avant qu'elle arrive aux cellules nerveuses. C'est là le fait essentiel sur lequel j'ai insisté dans une note du 9 décembre dernier, à l'Académie des Sciences. De même, nous avions antérieurement démontré, L. Camus et moi (*loc. cit.*), que les hématies des animaux immunisés contre le sérum d'anguille ne sont plus détruites par ce sérum, non pas parce qu'elles ont acquis une résistance propre, spécifique et en quelque sorte constitutionnelle, mais parce qu'il s'est formé dans le sang de ces animaux une substance antitoxique qui s'oppose à l'effet destructeur de l'ichtyotoxine.

III. — Les expériences que j'ai maintenant à relater viennent confirmer cette donnée, en même temps qu'elles en constituent une contre-épreuve.

J'ai trouvé, en effet, qu'on peut empêcher l'action si intense de l'injection intra-rachidienne du sérum de torpille en injectant par la même voie, et en même temps ou quelque temps auparavant, une quantité déterminée de sérum antitoxique (provenant d'un animal immunisé de la même espèce). Voici les expériences que j'ai pu réaliser jusqu'à présent.

Il me semble nécessaire de les répartir en deux séries, parce que les unes ont été faites avec un sérum antitoxique très actif, et les autres avec un sérum qui l'était très peu. Les animaux qui avaient fourni ces deux sérums avaient été cependant immunisés pendant le même laps de temps, soit 1 mois, à 5 jours près, et avaient reçu l'un et l'autre, pendant ce temps, huit injections de sérum de torpille, dont les deux ou trois dernières à dose toxique. L'un d'eux néanmoins, saigné 3 jours après la dernière injection, a donné un sérum très actif; l'autre, saigné le lendemain même de la dernière injection, a donné un sérum fort peu actif.

1° Avec le premier, dix expériences ont été faites.

A. — Deux animaux ont été injectés avec un mélange à parties égales de sérum antitoxique et de sérum toxique[1]; tous deux ont

1. Quand on opère ce mélange, il se produit un fin précipité.

survécu, après avoir présenté quelques accidents paralytiques qui ont duré plusieurs jours, s'atténuant d'ailleurs progressivement. — Un animal a reçu le même mélange, mais la quantité de sérum antitoxique était double de celle du toxique. Or, cet animal n'a présenté aucun accident, sauf une perte de poids considérable (250 grammes en vingt-quatre heures).

Trois animaux témoins, ayant reçu des doses inférieures du même sérum de Torpille, sont morts en trois-quatre heures, en vingt-cinq heures et en quarante-six heures.

B. — Trois animaux ont reçu le sérum antitoxique cinq minutes avant le toxique. Deux d'entre eux n'ont eu aucun accident (sauf la perte de poids consécutive qui a été, pour l'un, de 75 grammes et, pour l'autre, de 280 grammes en vingt-quatre heures); le troisième est mort en cinq jours; mais les deux premiers avaient reçu une quantité de sérum antitoxique double de la quantité du toxique et le dernier une quantité seulement égale.

Deux animaux témoins pour les deux premiers sont morts, l'un, en trente-trois minutes, et l'autre en vingt-cinq heures et demie. Un témoin pour le troisième, ayant reçu une dose moitié moindre de sérum toxique, est mort en quarante-six heures.

C. — Deux animaux ont reçu le sérum antitoxique dix minutes après le toxique, à une dose double de la dose de ce dernier. L'un n'a présenté aucun accident (sauf une perte de poids de 90 grammes en vingt-quatre heures); l'autre est mort en quarante-trois minutes, mais ce résultat est suspect, en raison d'une infiltration des muscles de la nuque constatée à l'autopsie et telle que l'on pouvait se demander si l'injection de sérum antitoxique avait bien pénétré jusqu'au bulbe.

Un animal témoin est mort en trente-trois minutes, un autre en une dizaine d'heures.

D. — Enfin, sur deux lapins, l'injection de sérum antitoxique, toujours en proportion double, a été faite un quart d'heure avant celle du toxique. Le premier n'a présenté que quelques petits accidents (un peu de polypnée et de myosis) et une forte chute de poids (245 grammes en vingt-quatre heures); l'autre est mort en dix-douze heures, avec les impulsions motrices, les accidents convulsifs, puis les phénomènes paralytiques ordinaires.

Mêmes témoins que pour les animaux de la série B.

2° Avec le second sérum, huit expériences ont été faites. Dans presque toutes, la quantité de sérum antitoxique a été le double de la quantité de toxique.

A. — Un seul animal a reçu un mélange des deux sérums; il est mort en 1 h. 3 min.

Deux lapins témoins, ayant reçu la même dose de toxine, sont morts en 15 et 21 min.

B. — Un seul animal a reçu le sérum antitoxique 10 min. avant le toxique. Après avoir présenté des accidents graves, il a survécu.

Mêmes témoins que pour le lapin A.

C. — Deux animaux ont reçu le sérum antitoxique un quart d'heure avant le toxique. L'un est mort en 40 h. environ, l'autre en 2 jours et une dizaine d'heures.

Mêmes témoins que pour A et B.

D. — Un seul animal a reçu le sérum antitoxique une demi-heure avant le toxique. Il est mort en 4 jours 35 min.

Mêmes témoins que ci-dessus.

E. — Trois animaux ont reçu le sérum antitoxique 1 h. avant le toxique. L'un est mort en 16 min., un autre en 55 min., et le troisième en 1 h. 26 min.; celui-ci avait reçu une dose d'antitoxine triple de la dose de toxine.

Mêmes témoins que ci-dessus. Un autre témoin a succombé en 4 min. à une injection intra-veineuse de 2 c. c. par kilogramme du même sérum de torpille; le sérum ayant servi à ces expériences était donc très toxique.

Encore que cette seconde série d'expériences soit moins pro bante que la première, en raison de l'activité beaucoup moindre du sérum antitoxique qui y a été employé, on voit que l'injection de l'antitoxine dans le liquide céphalo-rachidien, en même temps ou peu de temps avant l'injection du poison, protège le système nerveux contre les effets nocifs et mortels de ce dernier. Il ne m'a pas encore été possible de déterminer exactement la durée de l'action préventive exercée par le sérum antitoxique; dans la seconde série d'expériences, on remarque bien que cette durée n'a pas dépassé une demi-heure ou 1 h.; mais, comme celles-ci ont été faites avec un sérum peu actif, on n'en saurait rien conclure de sûr. C'est un point à fixer par de nouvelles recherches.

Il reste, dès maintenant, que les cellules nerveuses, de même que les globules rouges du sang, ne résistent à une ichtyotoxine donnée que parce que l'antitoxine de celle-ci se trouve en leur

présence, soit qu'elle reste à leur contact, soit qu'elle y ait été préalablement fixé; de toute façon, il faut que la neutralisation (chimique) de la toxine par l'antitoxine puisse s'effectuer pour que les éléments anatomiques soient protégés contre l'action de cette toxine.

XV

ACTION DES SÉRUMS TOXIQUES ET DE LEURS ANTITOXINES SUR LE SYSTÈME NERVEUX. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ *

Par **E. GLEY**

J'ai montré que divers sérums toxiques (sérum d'anguille et sérum de torpille), injectés directement dans le liquide céphalo-rachidien, agissent de la même façon sur les animaux préalablement immunisés et sur les animaux témoins[1]. Il résulte de ces faits que les éléments anatomiques, au cours de l'immunisation, n'ont pas acquis l'immunité; ils ne résistent qu'autant que la toxine, avant de les atteindre, a été neutralisée par l'antitoxine présente dans le sang; si la toxine peut arriver jusqu'aux cellules nerveuses des animaux immunisés sans passer par le milieu sanguin, elle les intoxique aussi bien que celles des animaux neufs.

Voici, à l'appui de cette conception, une preuve nouvelle[2].

J'ai trouvé qu'on peut empêcher les accidents si violents[3] que détermine l'injection sous-arachnoïdienne du sérum d'anguille

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 8 nov. 1909, t. CXLIX, p. 812.

1. E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 9 décembre 1907, t. CXLV, p. 1210.

2. Toutes les expériences résumées ci-après ont été faites sur le lapin. Voir, pour le détail des expériences, les comptes rendus du *Congrès de l'Assoc. franç. pour l'avancement des sc.*, session de Lille, 1909.

3. Voir E. Gley, *loc. cit.*, et *Congrès de l'Assoc. franç. pour l'avancement des sc.*, Clermont-Ferrand, 1908, p. 608.

ou du sérum de torpille en injectant dans le liquide céphalo-rachidien, en même temps ou plus ou moins longtemps avant, une quantité déterminée de sérum antitoxique (sérum sanguin provenant d'animaux préalablement immunisés).

1. Les animaux qui ont reçu le mélange de toxine et d'anti-toxine, à condition que celle-ci fût suffisamment active et en proportion double, n'ont point présenté d'accidents.

2. Il en est de même pour les animaux ayant reçu le sérum anti 5, 10 et 15 m. avant le sérum toxique si la dose du premier est suffisante (triple ou quadruple de celle du second).

3. Les animaux qui reçoivent l'antitoxine 1 et 2 h. avant la toxine ont des accidents plus ou moins graves, mais survivent presque tous.

4. Enfin l'injection du sérum antitoxique a été faite sur trois animaux 5 h. avant l'injection de sérum d'anguille. Un seul de ces lapins a survécu après avoir présenté des accidents graves durant 1 h. 1/2.

Bien entendu, pour chacune de ces séries d'expériences, il y eut des animaux témoins recevant les mêmes doses de sérum toxique seul ; tous moururent de la façon que j'ai décrite (*loc. cit.*).

Ainsi l'immunité des tissus, par rapport du moins aux toxines dont j'ai étudié l'action, dépend de la neutralisation, par les antitoxines correspondantes, des toxines amenées au contact de ces tissus. Dans ce fait se manifeste de nouveau la différence radicale qui existe entre l'immunité humorale et l'immunité cytologique, celle-ci tenant à la résistance propre, constitutionnelle en quelque sorte, des éléments anatomiques vis-à-vis d'une toxine donnée[1].

1. Voir à ce sujet L. Camus et E. Gley, *Arch. intern. de pharmacodynamie*, t. V, 1898, p. 247-305, et *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXIX, 24 juillet 1899, p. 231.

XVI

DE L'ACTION DES SÉRUMS TOXIQUES SUR LE CŒUR ISOLÉ D'ANIMAUX IMMUNISÉS CONTRE CES SÉRUMS *

Par **E. GLEY** et **V. PACHON**

Les ichtyotoxines (sérum d'anguille, sérum de torpille), portées directement dans le sytème nerveux central d'animaux préalablement immunisés contre l'action de ces liquides, l'empoisonnent de la même manière que le système nerveux d'animaux témoins; c'est ce qu'ont montré les recherches de l'un de nous[1].

Nous avons voulu voir si, dans quelque autre tissu, l'immunisation ne fait pas apparaître une résistance spécifique. Nos expériences ont été effectuées sur le cœur isolé du lapin, dont il est facile d'étudier le fonctionnement par la méthode de Langendorff, au moyen de l'appareil de V. Pachon[2].

Les sérums employés étaient le sérum d'anguille ou celui de torpille.

Il nous a fallu d'abord déterminer l'action de ces sérums sur le cœur du lapin normal.

La détermination exacte de la toxicité est rendue assez délicate par le fait des variations d'activité des sérums suivant l'âge de ceux-ci et surtout par cet autre fait, à savoir que ces liquides

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 8 novembre 1909, t. CXLVII, p. 813.

1. E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXLV, 9 décembre 1907, p. 210, et *Assoc. franç. pour l'avancement des sc.*, Clermont-Ferrand, 1908, p. 608.

2. Voir une description sommaire de cet appareil dans le *Journ. de Physiol. et de Pathol. générale*, 15 mars 1909, p. 253 (H. Busquet et V. Pachon).

n'agissent pas sur le cœur d'une façon élective; ils provoquent bien quelques troubles fonctionnels, mais ce ne sont point à coup sûr des *poisons cardiaques*. Sous ces réserves, voici les principaux phénomènes que nous avons observés :

L'adjonction au liquide de Ringer-Locke, qui circule dans les vaisseaux du cœur et entretient le fonctionnement de cet organe, d'une dose de sérum d'anguille variant de 1 à 4 p. 100, selon l'activité du sérum employé, amène plus ou moins rapidement des irrégularités du cœur : à un groupe de contractions devenues plus faibles, succède un groupe de contractions plus amples ; cette succession des mouvements cardiaques rappelle les *groupes périodiques de Luciani*, que ce physiologiste a décrits d'après ses observations sur le cœur de grenouille, mais en diffère par leur périodicité, beaucoup plus irrégulière. Au début du passage de la solution toxique dans les coronaires, il se produit quelquefois une courte phase d'accélération des contractions cardiaques.

Le sérum de torpille, ajouté au liquide de Ringer-Locke à la dose de 10 c.c. à 20 c.c. p. 100, produit des troubles arythmiques plus ou moins graves; souvent le cœur se ralentit aussi, quelquefois ses contractions diminuent d'amplitude.

Le cœur des animaux immunisés réagit-il aux sérums toxiques de la même façon que le cœur des lapins normaux? Les difficultés que nous avons signalées plus haut relativement à l'étude de l'action de ces toxines sur le cœur isolé se retrouvent naturellement ici. Il s'en ajoute une autre qui vient de ce que le cœur des animaux immunisés présente presque toujours des altérations ; il est hypertrophié[1], très souvent chargé de graisse avec un péricarde qui contient du liquide. On peut penser que ce cœur doit réagir moins bien qu'un cœur normal aux influences toxiques.

En fait, nous avons vu que le sérum d'anguille n'a produit, dans deux cas, que des troubles des plus légers ; dans un autre cas sont survenues, mais assez tardivement (10 m. après le début de l'intoxication), des irrégularités persistantes ; enfin, dans un dernier cas,

1. Voir E. Gley, Hypertrophie expérimentale du cœur (*Soc. de Biol.*, 27 juillet 1907, p. 208) [voy. ci-dessus p. 123].

tout de suite après le passage de la solution toxique, il s'est produit des irrégularités, une accélération de plus en plus marquée et un affaiblissement progressif des contractions. D'autre part, le sérum de torpille, sur le cœur de deux animaux immunisés, n'a produit aucun trouble [1]; au contraire, sur le cœur d'un troisième lapin, il a déterminé une arythmie analogue à celle qu'on observe sur le cœur des lapins normaux.

Conclusions. — Le cœur de plusieurs de ces animaux immunisés a présenté à peu près les mêmes troubles que celui des témoins. Il suit de là que cet organe isolé et fonctionnant en liquide Ringer-Locke, c'est-à-dire privé de l'antitoxine présente dans le sang circulant de l'animal intact, ne résiste guère mieux à l'action de la toxine que l'organe de l'animal non immunisé. La résistance aux toxines tiendrait donc à la présence élective, dans le sang, des antitoxines spécifiques correspondantes. Mais le cœur de plusieurs autres de nos lapins immunisés a paru posséder une certaine résistance à l'action de l'ichtyotoxine. Serait-ce là un fait d'accoutumance ou bien l'antitoxine, qu'on trouve dans le sang des immunisés et qui préserve les éléments anatomiques contre l'action de la toxine, se fixerait-elle en partie sur les éléments musculaires? Quoi qu'il en soit, cette résistance est un phénomène inconstant.

Ces expériences conduisent donc à des conclusions moins précises que celles faites par Gley dans les mêmes conditions sur le système nerveux des animaux immunisés. Ce qui peut tenir, en partie au moins, à ce que les sérums toxiques considérés, étant au premier chef des poisons du système nerveux central, tandis que, nous l'avons fait remarquer, ils agissent médiocrement sur le cœur, les réactions nerveuses sont plus nettes que les accidents cardiaques. Et ainsi l'étude du cœur isolé, qui paraissait *a priori* très favorable à la détermination de la nature du processus d'immunisation, ne s'est pas montrée dans ces recherches,

1. Il importe de remarquer, relativement à l'un de ces deux cas, que le sérum employé s'est également montré inactif à la même dose sur le cœur de deux animaux témoins. C'est donc une expérience dont il n'y a pas à tenir compte.

en ce qui concerne les sérums avec lesquels nous avons expérimenté la méthode de choix.

Appendice. — Dans trois expériences, nous avons fait fonctionner le cœur isolé, en ajoutant du sérum antitoxique (sérum de lapin immunisé) au sérum toxique introduit dans le liquide de circulation artificielle. Dans cette condition, nous avons vu le sérum d'anguille ou celui de torpille ne produire aucun effet sur le cœur.

XVII

RECHERCHES SUR L'ACTION ANTAGONISTE DES SÉRUMS TOXIQUES ET DE LEURS ANTITOXINES SUR LE SYSTÈME NERVEUX ET SUR LE COEUR ISOLÉ. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ *

Par **E. GLEY**

Dans des recherches antérieures, j'ai montré que divers sérums toxiques (sérum d'anguille et sérum de torpille), si on les injecte directement dans le liquide céphalo-rachidien, par ponction de la membrane occipito-atloïdienne sur le lapin, agissent de la même façon sur les animaux préalablement immunisés et sur les animaux témoins[1]. J'avais conclu que la résistance aux toxines dont il s'agit est due à la neutralisation de celles-ci par les antitoxines correspondantes qui se trouvent dans le sang des animaux immunisés; les éléments anatomiques, au cours de l'immunisation, n'ont pas acquis une immunité propre; dès qu'ils ne sont plus protégés par l'antitoxine, s'ils sont atteints directement par la toxine, sans que cette dernière ait passé par le milieu sanguin où elle aurait été neutralisée par son antagoniste, — et c'est là un particulier intérêt de cette application de la méthode des injections sous-arachnoïdiennes que j'ai faite

* *C. R. de l'Association française pour l'avancement des sciences*, Congrès de Lille, 38e session, p. 739-746, 4 août 1909.

1. E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 9 décembre 1907, t. CXLV, p. 1210; — *Congrès de l'Assoc. franc. pour l'avancement des sciences*, Clermont-Ferrand, 1908, p. 608.

systématiquement à l'étude de la question du mécanisme de l'immunité, — ils ne manifestent aucune résistance spéciale. Preuve nouvelle en faveur de la différence radicale qui existe entre l'immunité humorale et l'immunité cytologique[1].

I. — J'ai exposé l'année dernière au Congrès de l'Association, à Clermont-Ferrand, les résultats d'une série d'expériences qui confirment cette donnée générale. Ces expériences consistaient à injecter dans le liquide céphalo-rachidien, avant le sérum toxique, des quantités variables de sérum antitoxique; ainsi traités, les animaux ont survécu à la condition que la dose d'antitoxine fût suffisante et qu'elle ne fût pas injectée trop longtemps avant l'injection de toxine. J'ai étendu mes recherches qui n'avaient été faites alors qu'avec le sérum de torpille; je les ai répétées avec le sérum d'anguille, en variant les doses et en prolongeant les intervalles de temps séparant les deux injections. Voici les résultats obtenus.

Les expériences suivantes ont été faites avec du sérum de lapin provenant de deux animaux immunisés pendant six mois et demi, ayant reçu pendant ce laps de temps 24 injections intraveineuses de sérum d'anguille et ayant résisté à plusieurs reprises à des doses rapidement mortelles pour des animaux témoins. D'autre part, il a été constaté que les hématies du sang de ces animaux avaient acquis une grande résistance à l'action hémolytique du sérum d'anguille.

A. — Un seul animal a été injecté avec un *mélange de sérum antitoxique et de sérum toxique*[2], le premier était en proportion double. Il n'a présenté aucun accident. — Contre-épreuve : trois jours après, il reçoit la même dose de sérum toxique seul et meurt en 53 m.

Deux lapins témoins, recevant la même dose de sérum d'anguille (0,03 c.c. par kil.), succombent en 26 et 31 m.

B. — Un seul animal reçoit le sérum antitoxique *5 m.* avant le

1. Voir à ce sujet L. Camus et E. Gley : *Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305; — *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 24 juillet 1899, t. CXXIX, p. 231.

2. Dans mes expériences antérieures sur le sérum de torpille (*Congrès de l'Assoc. franc.*, 1908, p. 608), trois animaux avaient été injectés avec le mélange de ce sérum et du sérum anti et avaient résisté à l'injection.

toxique, à une dose double de celle de ce dernier. Il n'a aucun accident.

Mêmes témoins que pour l'animal A.

Contre-épreuve : quatre jours après, cet animal est injecté avec la même dose du même sérum toxique; il présente des accidents graves (impulsions motrices, myosis, salivation, dyspnée, etc.), durant au moins 2 h. Le lendemain, il succombe en 2. h. 3 m. à l'injection d'une dose moindre (0,02 c.c. par kil.) d'un sérum fraîchement recueilli.

C. — Deux animaux ont reçu le sérum antitoxique, en proportion double[1], *15 m.* avant le toxique. Ils ont succombé, l'un en 7 m., l'autre en 23 h.

Mêmes témoins que pour l'animal A; un autre témoin est mort en 12 m. (témoin pour l'animal ayant succombé en 7 m. à l'injection d'un sérum provenant d'une autre anguille que celle dont le sérum avait servi pour le lapin qui n'est mort qu'en 23 h.)

D. — Un animal a été injecté avec une dose double de sérum antitoxique, *30 m.* avant de recevoir le sérum toxique; il a survécu après avoir présenté des accidents graves, qui ont duré au moins 2 h. — Contre-épreuve : 5 jours après l'injection de la même dose du même sérum toxique; mort en 40 m.

Mêmes témoins que pour l'animal A.

E. — Quatre lapins reçoivent le sérum antitoxique *1 h.* avant le toxique, la dose injectée étant trois fois (pour deux de ces animaux, n°s 1 et 2), six fois (n° 3) et dix fois (n° 4) plus forte que celle du toxique.

Le n° 1 est mort en quelques heures; le n° 2 a survécu après avoir présenté des accidents graves pendant 1 h. 1/4; le n° 3 a survécu, n'ayant eu des accidents que pendant 20 à 30 m.; et enfin le n° 4 a survécu également, ayant présenté des accidents durant une demi-h.

La contre-épreuve, faite sur les trois survivants, a donné des résultats intéressants. Deux jours après l'expérience ci-dessus, le n° 2 reçoit la même dose du même sérum d'anguille : il a des accidents graves durant au moins 3 h. Cinq jours après, nouvelle injection, faite avec un nouveau sérum, mais avec une dose un peu moindre (0,02 c.c. par kil. au lieu de 0,03 c.c.) : accidents graves durant plus de 24 h. Onze jours après, injection de 0,03 c.c. par kil. : l'animal meurt en 36 à 48 h. — Le n° 3, deux jours après la première expérience, reçoit la même dose du même sérum toxique : il survit encore après avoir présenté des accidents graves pendant 1 h. 1/2. Le lendemain, même injection du même sérum : mort en 5 m. — Le n° 4, enfin, six jours

1. Quantité évidemment insuffisante, d'après toutes les expériences qui suivent.

après la première expérience, reçoit la même dose du même sérum toxique : il meurt en 1 h. 56 m.

Quant aux animaux témoins, deux lapins, qui ont servi de sujets de comparaison avec le n° 1, sont morts en 24 et 31 m., ayant reçu naturellement la même dose de sérum toxique; un lapin, témoin pour les n°s 2 et 3, est mort en 12 m., et deux témoins pour le n° 4 sont morts en 47 et 50 m.

F. — Trois lapins ont reçu une dose de sérum antitoxique dix fois plus forte que celle du sérum toxique *2 h.* avant cette dernière. L'un, le n° 1, est mort en 36 h. environ; les deux autres ont survécu après avoir présenté des accidents graves, le n° 2 durant au moins 30 m., et le n° 3 durant 1 h.

Six jours après (contre-épreuve), le n° 2 reçoit la même dose du même sérum toxique; il meurt en 23 h. 46 m. — Le n° 3 reçoit, trois jours après la première expérience (ayant perdu dans ce laps de temps 344 gr.)[1], une nouvelle dose égale du même sérum d'anguille : il survit après des accidents graves. Cinq jours plus tard, soit huit jours après la première injection (ayant encore perdu 177 gr., ce qui fait pour ce lapin de 1.946 gr., une diminution totale de 521 gr. en une semaine), on lui injecte de nouveau la même dose : il meurt en quelques heures.

Un lapin témoin pour les n°s 1 et 3 est mort en 50 m.; deux témoins pour le n° 2 sont morts en 47 et 50 m.; un autre témoin pour le n° 3, pour la dernière expérience pratiquée sur cet animal (trois jours après la première), est mort en 41 m.

G. — Trois animaux ont reçu le sérum antitoxique *5 h.* avant le toxique, une quantité dix fois plus grande. Deux ont succombé en 50 m. et en quelques heures; un seul a survécu, après avoir eu des accidents graves durant 1 h. 1/2.

Cinq jours plus tard (contre-épreuve), ce survivant reçoit la même dose du même sérum d'anguille : il meurt en deux jours et quelques heures (ayant perdu 234 gr. [poids primitif 2.025 gr.]), et avec une température au-dessous de 23°).

Trois témoins, pour les animaux de cette série, sont morts en 29 et 41 m. et en 36 h. environ.

Ainsi l'injection de sérum antitoxique dans le liquide céphalo-rachidien, même 1 h. et 2 h. avant l'injection de sérum toxique,

1. J'ai déjà signalé des pertes de poids aussi considérables sous l'influence du sérum de torpille. A la suite des injections intra-veineuses non immédiatement mortelles de ce sérum ou du sérum d'anguille, on peut observer aussi des diminutions de poids, mais moins marquées qu'après les injections sous-arachnoïdiennes.

a préservé presque tous les animaux; sur un total de 7, il n'y eut, en effet, que 2 morts, et du reste plus tardives que celles des témoins. Cette injection préventive, étant faite cinq heures avant celle du toxique, peut encore exercer quelquefois ses effets protecteurs. Ces expériences, rapprochées de celles réalisées avec le sérum antitoxique du sérum de torpille, dont j'ai fait connaître l'année dernière les résultats, montrent bien que l'immunité des tissus, relativement au moins aux toxines employées, dépend de la neutralisation, par les antitoxines correspondantes, des toxines portées au contact de ces tissus.

II. — Pareille conclusion ressort aussi, quoique moins nettement, de deux autres séries d'expériences, que j'ai faites en collaboration avec V. Pachon sur l'action des mêmes sérums d'anguille et de torpille sur le cœur isolé des animaux immunisés contre ces sérums[1].

Ces expériences ont été faites sur le lapin, dont le cœur isolé s'étudie aisément par la méthode de Langendorff[2]. Nous avons dû d'abord déterminer l'action des sérums dont il s'agit sur le cœur du lapin normal.

La détermination exacte de cette action est rendue assez délicate par le fait des variations d'activité des sérums suivant l'âge de ceux-ci et surtout par cet autre fait, à savoir que ces liquides n'agissent pas sur le cœur d'une façon élective; ils provoquent bien quelques troubles fonctionnels, mais on ne peut certes point les ranger parmi les « poisons cardiaques ». Ces réserves faites, voici en résumé ce que nous avons observé.

1. — L'addition au liquide de Ringer-Locke, qui circule dans les vaisseaux du cœur et entretient le fonctionnement de cet organe, d'une dose de sérum d'anguille variant de 1 à 4 p. °/₀₀, selon l'activité du sérum employé, amène plus ou moins rapidement des irrégularités du cœur : à un groupe de contractions devenues plus faibles, succède un groupe de contractions plus amples; cette succession de mouvements cardia-

1. E. Gley et V. Pachon, *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 1909, t. CXLVII, p. 813.
2. L'appareil utilisé dans ces expériences est un appareil spécial, imaginé par V. Pachon (voir *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 novembre 1909, p. 599).

ques rappelle les *groupes de Luciani*, décrits sur le cœur de la grenouille par ce physiologiste, mais en diffère par leur périodicité beaucoup plus irrégulière. Au début du passage de la solution toxique dans les coronaires, il se produit quelquefois une courte phase d'accélération des contractions cardiaques. — Le sérum de torpille, ajouté au liquide de Ringer-Locke à la dose de 10 à 20 c.c. p. °/₀₀, produit des troubles arythmiques plus ou moins graves; souvent le cœur se ralentit aussi, quelquefois ses contractions diminuent d'amplitude.

1 *bis*. — Le cœur des animaux immunisés réagit-il aux sérums toxiques de la même façon que le cœur des lapins normaux? Les difficultés que nous avons signalées plus haut relativement à l'étude de l'action de ces toxines sur le cœur isolé se retrouvent naturellement ici. Il s'en ajoute une autre, qui vient de ce que le cœur des animaux immunisés présente presque toujours des altérations : il est hypertrophié[1], très souvent chargé de graisse, avec un péricarde qui contient du liquide. On peut penser que ce cœur doit réagir moins qu'un cœur normal aux influences toxiques.

En fait, nous avons vu que le sérum d'anguille n'a produit, dans deux expériences, que des troubles des plus légers; dans un autre cas sont survenues, mais assez tardivement (10 m. après le début de l'intoxication), des irrégularités persistantes; enfin, dans un dernier cas, tout de suite après le passage de la solution toxique, il s'est produit des irrégularités, une accélération de plus en plus marquée et un affaiblissement progressif des contractions, — D'autre part, le sérum de torpille, sur le cœur de deux animaux immunisés, n'a produit aucun trouble[2]; au contraire, sur le cœur d'un troisième lapin, il a déterminé une arythmie, analogue à celle que l'on observe sur le cœur des lapins normaux.

Ainsi le cœur de plusieurs de ces animaux immunisés a présenté à peu près les mêmes troubles que celui des témoins. Il s'ensuit que cet organe isolé et fonctionnant en liquide de

1. Voir E. Gley : Hypertrophie expérimentale du cœur. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 27 juillet 1907, p. 208.
2. Il importe de remarquer, relativement à l'un de ces deux cas, que le sérum employé s'est également montré inactif à la même dose sur le cœur de deux animaux témoins. C'est donc une expérience dont il n'y a pas à tenir compte.

Ringer-Locke, c'est-à-dire privé de l'antitoxine présente dans le sang circulant de l'animal intact, ne résiste guère mieux à l'action de la toxine que l'organe de l'animal immunisé. Ce nouvel ordre de faits montre donc que la résistance aux toxines paraît bien tenir à la présence élective dans le sang des antitoxines spécifiques correspondantes. Mais le cœur de plusieurs autres de ces lapins immunisés a manifesté une certaine résistance à l'action de l'antitoxine. Serait-ce là un fait d'accoutumance ou bien l'antitoxine, que l'on trouve dans le sang des immunisés et qui préserve les éléments anatomiques contre l'action de la toxine, se fixerait-elle en partie sur les éléments musculaires? Quoi qu'il en soit, cette résistance est un phénomène inconstant.

Ces expériences conduisent par suite à des conclusions moins précises peut-être que celles que j'ai faites dans les mêmes conditions sur le système nerveux des animaux immunisés. Ce qui peut tenir, en partie au moins, à ce que les sérums toxiques considérés, étant au premier chef des poisons du système nerveux central, tandis qu'ils agissent médiocrement sur le cœur, les réactions nerveuses sont plus nettes que les accidents cardiaques. Et ainsi, l'étude du cœur isolé, qui paraissait *a priori* très favorable à la détermination de la nature du processus d'immunisation, ne s'est pas montrée dans ces recherches, en ce qui concerne les sérums avec lesquels nous avons expérimenté, la méthode de choix.

2. — Dans une autre série d'expériences, nous avons fait fonctionner le cœur isolé en ajoutant du sérum antitoxique (sérum de lapin immunisé) au sérum toxique introduit dans le liquide de circulation artificielle. Dans cette condition, nous avons vu le sérum d'anguille et celui de torpille ne produire aucun effet sur le cœur. Malheureusement, nous n'avons pu faire que trois expériences de ce genre; pour les multiplier comme il conviendrait, les quantités de sérum nécessaires pour déterminer des réactions cardiaques suffisamment nettes étant assez grandes, il faudrait avoir à sa disposition des quantités de sérum antitoxique plus considérables que celles que nous avons eues.

III. — De beaucoup des expériences relatées plus haut (I, en B

et de D à G) ressort une donnée sur laquelle il n'est pas sans intérêt, je crois, d'attirer l'attention. Il est facile de constater qu'à la suite de l'injection de sérum antitoxique dans le liquide céphalo-rachidien, les animaux résistent souvent à une deuxième injection de sérum toxique (expérience que j'ai qualifiée de contre-épreuve), comme le montre le tableau suivant; et ceux d'ailleurs qui y succombent meurent beaucoup moins vite que les animaux témoins (sauf une seule exception, celle de la série D), comme on peut le voir aussi sur le tableau. Exceptionnellement, j'ai vu un animal résister à une troisième injection (v. le tableau).

LAPINS des séries suivantes	INTERVALLE de temps entre l'injection de sérum antitoxique et celle de sérum toxique	2e INJECTION de sérum toxique faite après	SUITES de la 2e injection	3e INJECTION de sérum toxique faite après	SUITES de la 3e injection	4e INJECTION de sérum toxique faite après	SUITES de la 4e injection
B	5 minutes.	4 jours.	Survie.	5 jours[1]	Mort en 2 h. 3′		
D	20 —	5 —	Mort en 40′				
E	1 heure.	2 —	Survie.	5 —	Survie.	11 jours	mort en 36-48 h.
	—	2 —	Survie.	3 —	Mort en 5′		
	—	6 —	Mort en 1 h. 56′				
F	2 heures.	6 —	Mort en 23 h. 46′				
	—	3 —	Survie.	8 —	Mort en qq. heures.		
G	5 heures.	5 —	Mort en 2 j. et quelq. h.				

1. Dans cette colonne, comme dans la troisième et la septième, les jours sont comptés à partir du jour de la première injection de sérum toxique à la suite de l'injection de sérum antitoxique.

Ces faits s'expliqueraient-ils par un commencement d'immunisation locale du système nerveux chez les animaux ayant pu résister à une première injection intra-rachidienne de sérum toxique, grâce à l'injection antécédente de sérum antitoxique? Je rappellerai d'abord à ce sujet que les essais d'immunisation que j'ai faits par cette voie de la ponction de la membrane occipito-atloïdienne ont été infructueux[1]. D'ailleurs, comment

1. Voy. E. Gley : *Loc. cit.*

croire que des animaux, qui ont survécu à une deuxième injection du sérum toxique, sont immunisés, puisqu'ils succombent à une troisième injection? Cette deuxième injection, si elle avait donné lieu à un processus d'immunisation, aurait dû accroître leur résistance. Il n'en est rien, comme on l'a vu. De même, chez le seul animal qui ait survécu à une troisième injection (un des lapins de la série E) et chez lequel on pourrait penser que l'immunisation se produit, une quatrième injection, sans que la dose de sérum toxique ait été augmentée, a amené la mort. — Il semble que les choses se passent comme chez les animaux qui ont reçu de faibles doses de ces sérums toxiques et chez lesquels l'évolution des accidents est plus ou moins lente et peut même durer plusieurs jours (E. Gley, *loc. cit.*). Seuls, deux animaux ont fait exception (celui de la série D et un de ceux de la série E) et sont morts, l'un en 40 m. après la seconde injection, et l'autre en 5 m. après la troisième. Mais on sait de reste que l'action des toxines comporte, outre sa variabilité propre, une variabilité dépendant des individus. On est donc porté à admettre, étant donnée cette atténuation des effets d'une nouvelle injection de sérum toxique chez les animaux ayant reçu du sérum antitoxique, que ce dernier a modifié la perméabilité méningée, que, sous l'influence du sérum antitoxique, cette perméabilité est augmentée et conséquemment que la toxine injectée par la suite, quelques jours plus tard, s'éliminera assez rapidement pour que la quantité restante ne puisse plus produire que des effets atténués.

Pour vérifier cette seconde hypothèse, diverses expériences seront, si possible, à réaliser. Dès maintenant, il serait peut-être permis d'invoquer en sa faveur les intéressantes observations que A. Netter a récemment publiées, en collaboration avec son élève, R. Debré (*Soc. de Biol.*, 12 juin 1009, p. 976), concernant 19 cas d'injections intra-rachidiennes, chez des enfants, de sérum anti-méningoccique, dans lesquels se sont produits des accidents sériques; la perméabilité méningée, dans ces cas, a été assez modifiée[1] pour que le passage du sérum de cheval dans la

1. La modification de la perméabilité peut être due, Netter et Debré l'ont fait remarquer dans une autre note (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 10 juillet 1909,

circulation générale ait été aussi facile qu'après les injections sous-cutanées.

Dans cette manière de voir, si les vérifications nécessaires y étaient apportées, les phénomènes observés se rangeraient à côté de ces faits d'accoutumance plus ou moins marqués que l'on tend présentement à expliquer par une moindre absorption et par une élimination facilitée des substances toxiques. L'accoutumance apparaît ainsi comme profondément distincte de l'immunité; loin qu'il y ait, comme dans celle-ci, résistance accrue, il y a simplement diminution d'action d'un toxique, par suite de la réduction de sa quantité agissante, de celle qui pénètre jusqu'aux éléments anatomiques.

p. 101), à la maladie elle-même, à la méningite cérébro-spinale. Mais il se peut aussi qu'une semblable modification soit produite par un sérum antitoxique, comme on sait qu'elle l'est par d'autres substances, telles que l'iodure de potassium, le bleu de méthylène, etc. (expériences de H. Sicard [*Thèse de doctorat en médecine*, Paris, 1899, p. 60 et suiv.]).

XVIII

DE LA POLYPNÉE PAR LES SÉRUMS TOXIQUES *
(SÉRUMS D'ANGUILLE ET DE TORPILLE)

Par **J. SERIN** et **R. GAILLARDOT**

Dans ses recherches sur l'action toxique des sérums d'anguille et de torpille, M. Gley[1] avait remarqué comme fait constant, dans le cas où l'animal qui a reçu le sérum ne meurt qu'après un temps assez long, permettant de constater le phénomène, un amaigrissement considérable.

Voici quelques exemples de ce fait. Après injection intraveineuse de sérum d'anguille, un cobaye de 540 gr. avait perdu 235 gr. en 24 h. 30; un autre de 256 gr., 81 gr. en 46 h. — Après injection dans le liquide céphalo-rachidien, M. Gley a noté une perte de 240 gr. en 24 h. sur un lapin de 2.200 gr., de 200 gr. en 48 h. sur un lapin de 2.750 gr., de 380 gr. en 48 h. sur un lapin de 2.020 gr.

Même effet avec le sérum de torpille. Après injection intraveineuse, la perte est de 110 gr. en 24 h. chez un lapin de 1.600 gr., de 55 gr. en 24 h. sur un animal de 2.115 gr. — Après injection dans le liquide céphalo-rachidien, l'amaigrissement est encore plus marqué :

110 gr.	en 24 h. pour un lapin de		1.000 gr.	220 gr.	en 48 h. pour un lapin de		2.180 gr.
230	en 48 h.	—	1.100	340	en 48 h.	—	2.410
145	en 4 jours	—	1.135	360	en 48 h.	—	2.960
120	en 48 h.	—	1.240	160	en 24 h.	—	3.190
160	en 14 h.	—	1.880				

* *C. R. de la Soc. de Biol.*, 2 juillet 1910, t. LXIX, p. 22.

1. Voy. E. Gley, *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 13 juin 1904, p. 1547; *Ibid.*, 9 décembre 1907, p. 1210; *Congrès de l'Assoc. franç. pour l'avancement des sc.*, Clermont-Ferrand, 1908 et Lille, 1909.

Nous avons cherché, sur les conseils de M. Gley, quel est le mécanisme de cette perte de poids [1].

Prenant tout d'abord le poids des animaux d'heure en heure, nous avons constaté que la diminution se produit très peu de temps après l'injection et qu'elle est progressivement décroissante; que, pour une intensité trop forte des phénomènes nerveux, la chute du poids est atténuée, et cela d'autant plus que la mort sera plus rapide. Il n'y a, en un mot, pas de relation de cause à effet entre la gravité des accidents nerveux et la perte du poids. Nous avons obtenu les chiffres suivants, après injection du sérum d'anguille dans le liquide céphalo-rachidien :

Expér. I. — Un lapin de 2.675 gr., mort en 3 h. 4 min., a perdu 67 gr. et 25 gr. de fèces. La perte se produit ainsi : 45 gr. dans la 1re h., 30 dans la 2e et 17 dans la 3e.

Expér. II. — Lapin de 3.413 gr., ayant perdu 181 gr. et 3 gr. 42 de fèces en 6 h., soit 48 gr. dans la 1re h., 50 gr. dans la 2e, 50 dans la 3e, 20 dans la 4e, 8 dans la 5e et 5 dans la 6e.

Expér. III. — Lapin de 3.318 gr., ayant perdu 141 gr. en 4 h., soit 83 gr. dans la 1re h., 42 gr. dans la 2e, 12 gr. dans la 3e et 4 gr. dans la 4e.

Expér. IV. — Lapin de 2.925 gr.; perte de poids 94 gr. en 4 h., soit 43 gr. dans la 1re h., 39 gr. dans la 2e, 8 gr. dans la 3e et 4 gr. dans la 4e.

Dans les expériences suivantes, l'injection sous-arachnoïdienne a été faite avec le sérum de torpille.

Expér. V. — Lapin de 3.428 gr.; perte de poids 152 gr. en 3 h., 54 gr. dans la 1re h., 50 gr. dans la 2e et 48 dans la 3e.

Expér. VI. — Lapin de 2.640 gr.; perte de poids 93 gr. en 3 h., 37 gr. dans la 1re h., 41 gr. dans la 2e et 15 gr. dans la 3e.

Il ressort de ces expériences que la perte de poids n'est pas un phénomène de désassimilation lente, mais qu'il apparaît au contraire très rapidement, qu'il atteint son maximum une heure environ après l'injection, décroît ensuite et ne persiste pas au delà de quelques heures.

1. Cette question a fait le sujet de la thèse inaugurale de l'un de nous (J. Serin).

Nous avons voulu voir si, dans les éléments de l'urine, une élimination plus abondante ne pourrait expliquer en totalité ou en partie les pertes subies par les animaux en expérience. L'analyse des urines a été faite avant et après injection, durant cinq jours, sur des lapins en équilibre de nutrition; et sur quatre de ces animaux, après injection, nous n'avons jamais trouvé la moindre variation du volume, de la densité, des chlorures, des phosphates et de l'urée. D'autre part, l'élimination des fèces a toujours été constante.

Ayant remarqué que, parmi les accidents présentés par les animaux, il en était un à peu près constant, la polypnée, ayant en outre constaté que la perte de poids était d'autant plus élevée que la polypnée est plus intense et de plus longue durée, nous en avons inféré une relation de cause à effet entre ces deux phénomènes. Cette accélération respiratoire n'est pas la conséquence d'une forte désassimilation d'hydrates de carbone, avec amaigrissement consécutif. En effet, procédant au dosage de l'acide carbonique exhalé avant et après l'injection, nous n'avons jamais constaté de variations du quotient respiratoire dans quatre expériences consécutives.

Ainsi les recherches sur les différents produits de désassimilation étant négatives, nous étions amenés par déduction à attribuer les pertes de poids considérables subies par les animaux injectés à l'exhalation de vapeur d'eau par la surface pulmonaire.

Pour évaluer cet élément, nous avons eu recours à la balance de Richet qui donne les pertes de poids par kilogramme d'animal et par heure, et nous avons comparé les graphiques ainsi obtenus avec un graphique fourni par un animal non injecté. Nous avons ainsi constaté que la descente de la courbe est exactement proportionnelle à la polypnée et en relation directe avec la baisse de température, observée, d'autre part, sur nos animaux. Nous avons, pour cette polypnée *toxique*, retrouvé les lois exprimées par M. Richet pour la polypnée *thermique :*

1° L'animal se refroidit en respirant rapidement; 2° cette polypnée entraîne la réfrigération par exhalation de vapeur d'eau.

Quant au mécanisme de cette polypnée toxique, il est plus que probable que celle-ci résulte d'une action directe de la substance toxique sur le bulbe et non d'une action de l'acide carbonique, puisque celui-ci n'est pas exhalé en plus grande quantité.

Les sérums toxiques entraîneraient donc une perte de poids considérable en agissant directement sur les centres bulbaires. Ces pertes de poids apparaissent très peu de temps après l'injection et, diminuant progressivement, ne persistent pas au delà de quelques heures et sont très atténuées. La perte de poids est en relation étroite avec l'accélération des mouvements respiratoires et proportionnelle à l'augmentation de l'exhalation de vapeur d'eau.

XIX

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES SÉRUMS TOXIQUES (SÉRUM D'ANGUILLE ET SÉRUM DE TORPILLE)

***Recherches sur la Polypnée toxique* ***.

Par le **Dr Jules SERIN**

Pharmacien de première classe,
Ancien interne en pharmacie des hôpitaux de Paris,
Ancien externe en médecine des hôpitaux de Paris,
Médaille de bronze de l'Assistance publique.

INTRODUCTION

Dans un travail paru en 1888 et intitulé : *Un venin dans le sang des murénides*, A. Mosso (7) démontrait la toxicité du sérum d'anguille. Que l'on ait recours à l'injection sous-cutanée ou intra-veineuse, les troubles fonctionnels sont intenses et portent sur les appareils respiratoire, circulatoire et nerveux; l'action sur ce dernier est prédominante et, chez les animaux supérieurs, les accidents convulsifs ou paralytiques font rarement défaut.

En 1889, U. Mosso (8) fit quelques recherches sur la nature chimique du principe toxique du sérum d'anguille et l'assimila à une matière albuminoïde, une sérine probablement.

En 1898, dans une communication à l'Académie des Sciences, E. Gley et L. Camus (13) exposent leur découverte de l'action globulicide de ce sérum et de l'immunisation contre cette action. La même année, ces auteurs publient dans les *Archives interna-*

* *Thèse de Doctorat en Médecine*, Paris, 1910.

tionales de pharmacodynamie (12) l'ensemble de leurs recherches sur l'immunité acquise à l'égard de « l'ichtyotoxique ».

Poursuivant ces recherches, le professeur Gley communique au Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences (Clermont-Ferrand) en 1908 (22) une note sur l'action du sérum de torpille à l'égard du système nerveux des animaux immunisés contre ce sérum. Au Congrès de l'Association pour l'avancement des sciences de 1909 (session de Lille), nouvelle communication du même auteur sur l'immunisation contre les sérums toxiques (23).

En étudiant ces différents travaux, nous avons été frappé d'un fait constant et se reproduisant invariablement dans chacune des expériences : c'est la perte de poids, souvent considérable et toujours rapide, que subissent les animaux après l'injection du sérum toxique, et cela par quelque voie que ce soit.

Nous nous sommes efforcé, sur le conseil de M. Gley, de rechercher les causes de ce phénomène. Ce sont ces recherches qui font l'objet du présent travail.

Qu'il nous soit permis, avant de l'exposer, d'adresser l'expression de nos sincères remerciements et de toute notre reconnaissance à M. le professeur Gley, qui nous a accueilli avec une extrême bienveillance et tant d'affabilité dans son laboratoire.

En nous donnant ses conseils et nous communiquant les résultats de ses nombreuses expériences, il nous a facilité dans une grande mesure ce travail.

M. le professeur Richet a bien voulu nous faire l'honneur de présider cette thèse et a mis à notre disposition le précieux instrument nous permettant d'enregistrer les pertes de poids de nos animaux. Nous lui adressons l'expression de notre respectueuse et sincère gratitude.

A M. le docteur Nicloux, professeur agrégé, à l'obligeance de qui nous devons les appareils qui nous ont servi pour le dosage de l'acide carbonique, tous nos remerciements.

A M. le docteur Gaillardot, préparateur au Collège de France, dont les conseils nous furent précieux en maintes circonstances, reconnaissante amitié.

PLAN

Dans un premier chapitre, nous exposerons les expériences de M. le professeur Gley. Une première partie sera consacrée au sérum d'anguille; une seconde partie, au sérum de torpille.

Dans le deuxième chapitre, nous rechercherons par quel processus se fait la perte de poids.

Dans le troisième chapitre, nous relaterons les analyses effectuées sur les urines des animaux en expérience.

Le quatrième chapitre traitera de la respiration et se subdivisera en deux parties : l'une, consacrée au dosage de l'acide carbonique; l'autre, à l'évaluation de la vapeur d'eau.

Dans un dernier chapitre, nous présenterons nos conclusions.

CHAPITRE PREMIER

I. — SÉRUM D'ANGUILLE

Rappelons d'abord comment les expérimentateurs (12) se procurèrent la matière de leurs expériences. Une canule de verre stérilisée est introduite dans l'aorte de l'animal, puis, lorsque l'artère ne donne presque plus de sang, des pressions méthodiques sont exercées de l'extrémité postérieure vers la tête; on réalise, pour ainsi dire, une expression destinée à retirer du corps de l'animal le plus de sang possible. Celui-ci est recueilli dans de petits tubes stérilisés; au bout de quelques heures, le caillot est formé et le sérum peut être recueilli. La coloration est blanc verdâtre, quelquefois jaunâtre. Le produit est dilué, au moment de l'emploi, dans une solution chlorurée sodique à 8 p. 1.000. La conservation a lieu dans la glacière et les propriétés peuvent se garder longtemps. Quant au sérum de torpille, sa toxicité s'altère plus rapidement.

La dilution du sérum conservé à l'état sec possède une action identique à celle du sérum liquide.

Chaque fois qu'il est fait une provision de sérum d'anguille, la toxicité devra être essayée, celle-ci variant avec l'animal sacrifié, tant au point de vue de la provenance que du moment de l'année à laquelle on a opéré.

Quelle voie sera employée pour l'injection? Sur le cobaye, la veine jugulaire; sur le lapin, soit une veine marginale de l'oreille, soit l'injection dans le liquide céphalo-rachidien en ponctionnant la membrane occipito-atloïdienne.

Les phénomènes pathologiques différeront par certains points suivant la voie d'introduction; aussi pouvons-nous diviser en deux catégories les expériences :

1° Celles dans lesquelles l'injection est faite par voie veineuse ;

2° Celles où on a recours à la voie rachidienne.

1° Injections intra-veineuses.

Remarquons tout d'abord que, pour des doses variées, on obtient des effets également variés. D'une façon générale, à forte dose, 0,1 c.c. à 0,15 c.c. par kilogramme pour le lapin et 0,07 c.c. à 0,08 c.c. par kilogramme pour le cobaye, le sérum d'anguille détermine une excitation du système nerveux caractérisée par des phénomènes convulsifs, et l'animal meurt rapidement avec prédominance d'accidents bulbaires. Une dose plus élevée ne modifie pas notablement les phénomènes. Nous ne citons d'ailleurs ces faits que pour mémoire, car ils ne regardent pas la question que nous voulons examiner.

D'un intérêt capital, au contraire, sont les accidents suivant les injections de doses plus faibles; après une courte période d'agitation survient de la paralysie; l'animal peut rester dans cet état jusqu'à la mort; mais, d'autres fois, il se produit secondairement des phénomènes convulsifs, convulsions cloniques surtout, après lesquelles l'animal meurt. Au cours de cette intoxication plus lente, on observe souvent de la salivation et du larmoiement.

Ici encore se manifeste l'intoxication du bulbe, mais la moelle est fortement atteinte aussi.

Dans cette forme lente, le poids de l'animal *diminue beaucoup, et très rapidement, même quand il peut s'alimenter. D'habitude, il est vrai, il ne mange pas, mais la perte de poids qui se produit, par exemple, en vingt-quatre heures, dépasse notablement celle qui se produirait par la simple inanition.* (L. Camus et E. Gley [12], p. 286.)

Richet et Héricourt (*Soc. de Biologie*, 23 janvier 1897, p. 74) ont également remarqué que les chiens, qui ont reçu plusieurs injections sous-cutanées de sérum d'anguille, dépérissent.

H. Kossel (14) dit que l'injection d'une dose d'ichtyotoxique qui n'amène pas la mort rapidement, produit un empoisonnement chronique. Au bout de quelques jours, les animaux ont subi une perte de poids très forte.

Citons quelques expériences (L. Camus et E. Gley, 12) à l'appui de ces assertions.

Expér. I. — Cobaye ♂. Poids : 232 gr. Injection de 0,015 c.c. Chute, cris, abattement. Mort en 24 heures. Poids au moment de la mort : 190 gr. Perte de poids : 42 gr.

Expér. II. — Cobaye ♂. Poids : 256 gr. Injection de 0,016 c.c. Cris, paraplégie, secousses convulsives, puis rémission. Mort en 46 heures. Poids au moment de la mort : 175 gr. Perte de poids : 81 gr.

Expér. III. — Cobaye ♀. Poids : 540 gr. Injection de 0,02 c.c. Tremblements fibrillaires, paralysie, salivation, convulsions secondaires. Mort en 24 h. 30. Poids au moment de la mort : 305 gr. Perte de poids : 235 gr.

Les accidents nerveux mentionnés chez ces trois animaux établissent le pouvoir toxique du sérum injecté. Or, cette toxicité disparaît totalement après chauffage à 58° pendant un quart d'heure. Si on injecte le sérum ainsi traité, les phénomènes nerveux ne se produisent pas, mais la perte de poids se manifeste avec une égale intensité. Voici des expériences.

Expér. IV. — Cobaye ♂. Poids : 235 gr.
Injection dans la veine jugulaire droite de 1 c.c. de sérum d'anguille dilué dans 5 c.c. d'eau à 5 p. 100 et chauffé à 58° pendant 15 m.

Tremblements, respiration légèrement accélérée, poils hérissés. Les deux jours suivants, l'animal est très bien portant; le surlendemain, le poids n'est que de 187 gr. L'animal a donc perdu, en deux jours, 48 gr., soit 20,4 p. 100 de son poids.

Expér. V. — Cobaye ♂. Poids : 325 gr.

Injection dans la veine jugulaire droite de 1 c.c. de sérum d'anguille chauffé à 58° pendant 15 m. Pas d'accidents.

Poids de l'animal 23 heures après l'injection : 298 gr.

Poids de l'animal 45 heures après l'injection : 284 gr.

La perte de poids en deux jours a donc été de 41 gr.

Le troisième jour, nouvelle injection dans la veine jugulaire gauche de 1,6 c.c. du même sérum chauffé à 85° pendant 30 m. Rien à noter.

Poids de l'animal 41 heures après l'injection : 277 gr.

Poids de l'animal 3 jours après l'injection : 254 gr.

Le sérum a perdu complètement son action.

2° Injections dans le liquide céphalo-rachidien.

Ce procédé a été mis systématiquement en œuvre par M. Gley pour l'étude des sérums toxiques.

La technique de cette injection est simple. Après avoir repéré l'espace occipito-atloïdien, on ponctionne la membrane à l'aide d'une aiguille de Pravaz et l'on enfonce jusqu'à ce qu'on voie apparaître par la lumière le liquide céphalo-rachidien; on laisse s'écouler quelques gouttes, puis on injecte le sérum mélangé à parties égales d'une solution de chlorure de sodium à 8 p. 1.000. Les accidents apparaissent au bout de deux ou trois minutes; ce sont des accidents respiratoires, polypnée et dyspnée, en même temps que des désordres du système nerveux central consistant en impulsions motrices (course plus ou moins rapide, saut en hauteur, quelquefois mouvements de manège, attaques cloniques). On observe également du myosis, de l'exophtalmie, de la salivation. La phase d'excitation est suivie d'une phase de paralysie ou parésie. La mort survient en des laps de temps très différents et toujours en rapport avec la dose injectée. Si celle-ci n'est pas suffisante pour entraîner la mort immédiate, les accidents paralytiques dominent et durent plusieurs jours, s'atténuant

progressivement. La température est très basse; il a été noté 30 à 33° le lendemain de l'injection.

La perte de poids est considérable; elle atteint 100 à 200 gr. le lendemain de l'injection.

Tels sont, en résumé, les accidents consécutifs à l'injection intra-rachidienne. Les expériences suivantes[1] vont nous permettre de les exposer plus en détail, et la perte de poids, déjà sensible avec les injections intra-veineuses, sera plus accentuée encore.

Quant à la toxicité du sérum, elle est environ dix fois plus grande par la voie rachidienne.

Expér. VI. — Lapin ♂ immunisé. Poids : 2.200 gr.

A 10 h. 2, injection de 2 centièmes de c.c. par kilogramme, soit 0,044. c.c.

10 h. 3. L'animal s'affaisse.

10 h. 7. Du myosis apparaît et il se manifeste de la dyspnée polypnéique.

10 h. 9. Agitation violente, secousses convulsives.

10 h. 11. Course en se traînant.

10 h. 12. L'animal reste étendu sur le ventre.

10 h. 15. Salivation.

10 h. 45. Forte dyspnée.

1 h. 30. L'animal est toujours étendu.

5 heures. Il se remet à marcher.

Poids 24 heures après l'injection : 1.960 gr.

Perte de 240 gr. en 24 heures.

Expér. VII. — Lapin ♂ gris immunisé. Poids : 2.750 gr.

A 2 h. 30, injection de 0,02 c.c. par kilogramme.

A 2 h. 36, paralysie, polypnée. L'animal est étendu sur le ventre, cet état persiste jusqu'à 3 h. 15. A ce moment, l'animal reprend une position naturelle.

Poids le surlendemain : 2.550 gr.

Perte : 200 gr. en 48 heures.

Expér. VIII. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.600 gr.

A 5 h. 29, injection de 0,0266 c.c.

Agitation convulsive presque aussitôt après.

1. Communiquées par M. Gley.

A 5 h. 53, attaques convulsives et mort.

La mort ayant été très rapide, la perte de poids n'a pu être constatée.

Expér. IX. — Lapin ♂ gris tacheté de blanc. Poids : 2.020 gr.

A. 4 h. 23, injection de 0,04 c.c. par kilogramme.

(Cette injection a été faite non dans le liquide céphalo-rachidien, mais dans la substance cérébrale.)

A 4 h. 32, courte impulsion motrice, puis l'animal reste immobile, étendu sur le ventre, la tête contre le sol.

A 6 heures recommence à marcher.

Poids 24 heures après l'expérience : 1.790 gr.

Perte : 230 gr.

48 heures après l'injection, mort.

Poids après la mort : 1.640 gr.

Perte totale en 48 heures : 380 gr.

II. — SÉRUM DE TORPILLE

Le procédé employé pour recueillir le sérum de torpille est le même que celui précédemment décrit au sujet du sérum d'anguille. Les propriétés physiologiques sont analogues. Tandis que la quantité de sérum d'anguille à injecter par voie rachidienne est de 1 centième de c.c. par kilogramme, elle est de 1 dixième pour le sérum de torpille et de 1 c.c. par voie veineuse (17). La toxicité par l'une et l'autre voie est donc beaucoup moindre. Quant aux pertes de poids, elles se font avec une rapidité et une intensité égales. On a noté de même un abaissement considérable de la température. Les phénomènes cérébraux sont en général plus intenses qu'avec le sérum d'anguille. Fréquemment, enfin on observe de la diarrhée.

Comme précédemment, nous diviserons les expériences en deux séries d'après la voie d'injection employée. Quant à la technique, elle est la même que pour le sérum d'anguille.

1° Injections intra-veineuses.

Expér. I. — Lapin ♂ blanc albinos. Poids : 1.600 gr.
Injection de 0, 6 c. c. par kilogramme.
Pas d'accidents. 24 heures après, l'animal pèse 1.490 gr.
Perte de poids : 110 gr.

Expér. II. — Lapin ♀ gris brun. Poids : 860 gr.
11 h. 5. Injection de 1,7 c. c.
11 h. 10. Accélération respiratoire.
11 h. 14. Miction.
11 h. 15. L'animal s'affaisse. Polypnée intense.
11 h. 20. 140 respirations par minute.
11 h. 21. Un peu de parésie. La sensibilité est conservée. Apathie à se mouvoir.
11 h. 30. Marche difficilement.
11 h. 33. L'animal tombe sur le flanc et ne peut se relever.
11 h. 39. La tête est inclinée sur le sol.
12 h. L'animal, étendu sur le sol, les pattes antérieures écartées, se déplace de plus en plus difficilement.
12 h. 15. Immobilité complète, bien que l'on pince fortement l'animal.
4 h. 15. L'immobilité est toujours absolue. A ce moment, la température rectale est de 32°,75.
Poids 24 heures après l'injection : 840 gr.
Perte : 20 gr.

Expér. III. — Lapin ♀ blanc oreilles noires. Poids : 2.115 gr.
A 2 h. 20, injection de 2,11 c. c.
De la dyspnée et de la polypnée se manifestent, pas d'accidents nerveux à noter.
Poids 24 heures après l'injection : 2.060 gr.
Perte : 55 gr.

Ces diverses expériences, exception faites pour la première, sont peu concluantes, les pertes de poids, quoique notables, n'étant pas aussi marquées ni aussi rapides que celles que nous constaterons avec les injections dans le liquide céphalo-rachidien. Ce même fait a d'ailleurs été noté au sujet des expériences faites avec le sérum d'anguille.

2° Injections dans le liquide céphalo-rachidien.

Ces expériences de M. Gley, très nombreuses, viennent s'ajouter à celles faites avec le sérum d'anguille que nous avons exposées plus haut; mais la toxicité étant moindre, les animaux ont survécu en plus grand nombre et les pertes de poids ont pu être facilement enregistrées.

Expér. IV. — Lapin ♀ blanc, oreilles grises, quelques taches grises. Poids : 1.240 gr.

A 10 h. 12. Injection de 1/10 de centimètre cube par kilogramme, soit 1,124 c. c.

10 h. 13. De la polypnée se manifeste.

10 h. 18. Course.

10 h. 22. Parésie très marquée.

10 h. 23. L'animal est étendu, les quatre membres écartés, sans pouvoir se relever. Myosis.

10 h. 24. Paralysie des quatre membres.

10 h. 32. Myosis très marqué. Dyspnée.

11 h. Le myosis s'atténue. L'animal salive abondamment.

5 h. 55 du soir. L'animal reste immobile dans sa cage, mais se déplace quand on l'excite.

30 heures après l'injection, démarche spasmodique, trépidation épileptoïde par percussion du tendon rotulien.

48 heures après l'injection, l'animal pèse 1.120 gr., ayant perdu 120 gr.

4 jours après, il ne pèse plus que 1.070 gr., ayant perdu au total 170 gr.

Le 5e jour, il reprend une partie de son poids et pèse 1.115 gr.

Expér. V. — Lapin ♂ blanc, taches grises, oreilles grises.

Poids : 1.100 gr.

10 h. 27. Température : 40°.

10 h. 34. Injection de 1,11 c. c.

10 h. 37. Augmentation de l'amplitude des mouvements respiratoires.

10 h. 40. Polypnée, myosis.

10 h. 44. Parésie.

10 h. 50. L'animal reste immobile, la tête penchée.

11 h. Myosis, immobilité.

11 h. 40. Température : 38°,9.

48 heures après l'injection, l'animal, toujours parésié, pèse 970 gr., ayant perdu 230 gr.

5 jours après l'injection, il a repris une partie de son poids et pèse 1.000 gr.

Expér. VI. — Lapin ♀ blanc, oreilles grises, quelques taches grises. Poids : 1.125 gr.

9 h. 44. Injection de 0,11 c. c.

9 h. 50. Agitation, course.

10 h. 5. L'animal est immobile et inquiet.

10 h. 15. Salivation abondante.

6 h. 30. L'animal est à peu près complètement parésié.

Poids 24 heures après l'injection : 1.020 gr.

Perte : 105 gr.

Poids 4 jours après l'injection : 980 gr.

Perte totale : 145 gr.

Expér. VII. — Lapin ♂ blanc, taches grises, oreilles grises. Poids : 1.000 gr.

9 h. 52. Injection de 0,1 c. c. par kilogramme ; aussitôt après, parésie.

10 h. 5. Défécation.

10 h. 9. Agitation, course.

10 h. 15. Salivation, dyspnée, respiration ralentie.

10 h. 18. Immobilité.

6 h. 30. La parésie persiste.

Poids 24 heures après l'injection : 890 gr.

Perte : 110 gr.

4 jours après l'injection, l'animal a repris son poids primitif : 1.010 gr.

Expér. VIII. — Lapin ♀ noir et blanc. Poids : 1.070 gr.

10 h. Injection de 0,2 c. c. par kilogramme ; aussitôt après, mouvements de rotation sur l'axe.

10 h. 5. L'animal reste sur le flanc. Dyspnée, myosis.

10 h. 15. Un peu de salivation ; il se remet à marcher.

10 h. 25. L'animal est ramassé sur lui-même, la tête contre le sol.

10 h. 28. Attaque tétanique qui se termine à 10 h. 29 par quelques mouvements cloniques des pattes postérieures.

10 h. 30. Tremblements des quatres membres. Salivation.

10 h. 36. Polypnée, 108 respirations par minute.

10 h. 38. Attaque subite, course, puis chute sur le flanc, mouvements cloniques.

10 h. 50. 92 respirations par minute.

10 h. 58. Température rectale : 37°,3.

11 h. L'animal est complètement immobile. Paralysie des quatre pattes.

Poids 24 heures après l'injection : 1.010 gr.

Perte : 60 gr.

Température : 33°,8.

La diminution de poids a continué les jours suivants.

Le 3e jour après l'injection, le poids est de 985 gr. et la température 32°,9.

Le 6e jour : 930 gr. ; température : 36°,2.

La paralysie existe toujours, et l'animal meurt 23 jours après l'injection, pesant 900 gr.

A l'autopsie, on trouve la vessie pleine d'une urine renfermant de l'albumine.

La couche corticale des reins est légèrement congestionnée.

Expér. IX. — Lapin ♀ noir. Poids : 2.410 gr.

2 h. 18. Injection de 0,15 c. c. par kilogramme.

1 h. 22. Polypnée avec dyspnée.

2 h. 26. L'animal se soulève sur ses quatre pattes ; myosis, contractions dans les muscles des membres postérieurs.

2 h. 30. Il reste immobile, allongé.

Poids 48 heures après l'injection : 2.070 g.

Perte : 340 gr.

Expér. X. — Lapin ♀ jaune. Poids : 2.180 gr.

2 h. 27. Injection de 0,2 c. c. par kilogramme.

2 h. 30. Cris aigus, puis dyspnée.

2 h. 31. Agitation.

2 h. 32. L'animal se paralyse, quelques faibles cris.

2 h. 33. Agitation convulsive, myosis.

2 h. 45. Polypnée.

3 h. Salivation abondante.

3 h. 20. Respiration très ralentie.

6 h. Respiration meilleure, l'animal ne fait aucun mouvement.

48 heures après l'injection. Poids : 1.960 gr.

Perte : 220 gr.

Le 3e jour, l'animal pèse 1.950 gr., avec une perte de 230 gr.

Enfin le 6e jour le poids est de 1.890 gr., avec une perte totale de 290 gr.

Or, tandis qu'en 24 heures la perte de poids a été de 220 gr., on voit que la diminution n'est plus que de 70 gr. pour les quatre jours suivants.

Expér. XI. — Lapin ♀ gris. Poids : 1.880 gr.

Injection, après trépanation sur le côté gauche du crâne, de 0,1 c. c. par kilogramme dans le liquide céphalo-rachidien, sans dilution préalable du sérum.

Pas d'accidents. Perte de poids : 160 gr. en 14 h. 1/2.

Expér. XII. — Lapin ♂ gris jaune. Poids : 2.960 gr.

11 h. 4. Injection de 0,1 c. c. par kilogramme.

11 h. 10. Salivation ; à partir de ce moment, l'animal reste allongé.

Poids 48 heures après l'injection : 2.600 gr.

Perte de poids : 360 gr.

3 jours après l'injection, l'animal pèse 2.700 gr. et a repris 100 gr.

Expér. XIII. — Lapin ♀ gris. Poids : 1.780 gr.

2 h. 16. Injection de 0,2 c. c. par kilogramme.

2 h. 18. Agitation légère, puis l'animal s'affaisse.

2 h. 22. Course difficile par suite de la paralysie commençante. Myosis très net, la salivation commence.

2 h. 24. Dyspnée, les pattes postérieures sont projetées en avant et immobiles dans cette position, puis l'animal tombe sur le côté.

3 h. 37. L'animal est toujours sur le flanc. Le myosis est en partie dissipé.

4 h. 25. Température : 32°,8.

Poids 24 heures après l'injection : 1.725 gr.

Température : 26°,3.

Perte : 55 gr.

Expér. XIV. — Lapin ♂ gris. Poids : 2.590 gr.

2 h. 30. Injection de 0.10 c. c. par kilogramme.

2 h. 34. Agitation, mouvement de manège.

2 h. 36. Myosis, salivation.

2 h. 37. Course, mouvements convulsifs, cris aigus ; l'animal tombe sur le flanc. Polypnée.

4 h. 25. Température : 34°,4. Paralysie.

Poids 24 heures après : 2.530 grammes.

Perte : 60 gr. Température : 30°,6.

Trois jours après, l'animal meurt après avoir présenté des phénomènes paralytiques généralisés, de la diarrhée, et le poids pris immédiatement après la mort est de 2.300 gr.

Expér. XV. — Lapin ♂ blanc, train postérieur gris foncé. Poids : 2.280 gr.

2 h. 30. Injection de 0,3 c. c. par kilogramme.

2 h. 35. Myosis plus marqué à gauche.

2 h. 36. Crise convulsive, mouvements cloniques.
2 h. 38. Même état, salivation.
2 h. 39. Nouvelle crise convulsive.
2 h. 41. Essaie de courir, mouvements cloniques.
3 h. Quelques mouvements cloniques par instants, surtout du train postérieur.
6 h. L'animal est sur le flanc et dans l'impossibilité de se relever.
17 heures après l'injection, mort.
Poids aussitôt après : 2.230 gr.
Perte : 50 gr.

Expér. XVI. — Lapin ♀ noir. Poids : 1.750 gr.
4 h. 24. Injection de 0,35 c. c. par kilogramme.
4 h. 29. Course très vive. Myosis très marqué.
4 h. 40. L'animal tombe sur le flanc. Myosis, dyspnée.
Poids : 1.720 gr.
Perte : 30 gr. en 15 h. 36. Mort en 25 h. 36.

Expér. XVII. — Lapin ♀. Poids : 3.190 gr.
3 h. 14. Injection de 0,3 c.c. par kilogramme. Quelques minutes après l'injection, course rapide à trois reprises, puis la polypnée commence.
3 h. 30. Course rapide. Polypnée intense. Myosis à partir de ce moment; l'animal reste abattu, immobile.
3 h. 55. Salivation.
24 heures après l'injection, mort.
Poids : 3.060 gr.
Perte : 130 gr.
La température était descendue à 36°,4.

Si, au même moment ou peu de temps avant l'injection de sérum toxique, on introduit par la même voie une quantité déterminée de sérum antitoxique, provenant d'un animal immunisé de la même espèce, les phénomènes intenses qui se manifestent du côté du système nerveux n'ont en général pas lieu (22 et 23). Néanmoins, la perte de poids considérable qui a été observée dans les expériences précédentes persiste et n'est nullement atténuée.

En voici des exemples [1] :

Expér. XVIII. — Lapin ♀ roux. Poids : 1.965 gr.
A 5 h. 18, injection dans le liquide céphalo-rachidien d'un mé-

1. Communiqués par M. Gley.

lange de 0,2 c. c. par kilogramme de sérum de torpille et 0,4 c. c. de sérum de lapin immunisé contre ce sérum; aucun accident.

21 h. 30 après l'injection, l'animal pèse 1.715 gr., soit une perte de 250 gr. Il a de la diarrhée.

48 h. après, poids : 1.690 gr., avec une perte totale de 275 gr.

3 jours après, l'animal reprend du poids et pèse 1.775 gr.

Expér. XIX. — Lapin ♂ rouge, cou blanc. Poids : 2.400 gr.

5 h. 37. Injection de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de lapin immunisé.

5 h. 44. Injection de 0,2 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.

5 h. 58. Un peu d'agitation, l'animal pose sa tête sur le sol.

5 h. 59. Course, myosis.

6 h. Course, mais l'animal ne peut se tenir sur ses pattes antérieures.

6 h. 1. Mouvements convulsifs des quatre membres, l'animal ne peut plus se déplacer, salivation.

Myosis, puis il reste étendu sur le ventre.

6 h. 17. Attaque convulsive après laquelle il tombe sur le flanc, respiration difficile.

Mort 12 h. après l'injection.

Poids : 2 kil. 200. Perte : 200 gr.

Expér. XX. — Lapin ♀ gris rouge. Poids : 2.040 gr.

3 h. 40. Injection de 0,6 c. c. par kilogramme de sérum de lapin immunisé.

3 h. 45. Injection de 0,3 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.

Aucun accident jusqu'à 7 h.

Poids 24 heures après l'injection : 1.760 gr. Perte : 280 gr.

48 heures après l'injection, l'animal a repris une partie de son poids et pèse 1.910 gr.

Le troisième jour, il est revenu à son poids primitif.

Expér. XXI. — Lapin ♀ gris, épaule droite blanche.

Poids : 1.930 gr.

3 h. 4. Injection de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de lapin immunisé.

3 h. 9. Injection de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.

3 h. 12. Paraît un peu inquiet ; défécation.

3 h. 16. Myosis, salivation, l'animal laisse tomber la tête sur le sol. Dyspnée avec cornage.

3 h. 35. Reste immobile, myosis.

24 heures après l'injection, parésie des quatre membres. Poids : 1.830 gr.

Perte : 100 gr.

Température : 33°,4.

48 heures après l'injection. Poids : 1.780 gr. Diarrhée.

3 jours après. Poids : 1.680 gr.

Mort le quatrième jour. L'animal pèse 1.540 gr., soit une perte totale de 390 gr., dont 190 imputables à la diarrhée.

Expér. XXII. — Lapin ♀ blanc, train postérieur gris.

Poids : 1.735 gr.

3 h. 30. Injection de 0,8 c. c. de sérum de lapin immunisé.

3 h. 35. Injection de 0,4 c. c. de sérum de torpille.

3 h. 39. Série de défécations.

3 h. 42. L'animal est inquiet; il se produit un peu de dyspnée.

4 h. 10. Toujours de la dyspnée. Pas de myosis.

Poids 23 h. 30 après l'injection : 1.630 gr. Perte : 105 gr.

48 heures après l'injection. Poids : 1.640 gr., l'animal a repris 10 gr. ; il reprend son poids normal le 5e jour.

Expér. XXIII. — Lapin ♀ gris, raie blanche sur le nez.

Poids : 1.610 gr.

4 h. 5. Injection dans le liquide céphalo-rachidien d'un mélange de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de torpille et 0,4 c. c. de sérum de lapin immunisé.

22 heures après l'injection, le train postérieur est paralysé.

Poids : 1.465 gr. Perte : 145 gr.

Température : 34°,5.

48 heures après l'injection, poids : 1.385 gr. La perte totale est de 225 gr., dont 80 gr. seulement pour la dernière période.

La température (35°,3) se relève.

Le 3e jour, l'animal reprend du poids et pèse 1.415 gr.

Le 6e jour, le lapin est très bien portant et pèse 1.560 gr.

8 jours après, il lui est injecté 0,35 c. c. par kilogramme de sérum de torpille, à 2 h. 26.

2 h. 28. L'animal tombe sur le flanc et a de la polypnée.

2 h. 35. Myosis très marqué, salivation.

5 h. 5. Paralysie.

19 heures après l'injection, poids : 1.455 gr. Perte : 105 gr.

Température : 33°,4.

L'animal meurt 6 jours et 10 heures après cette seconde injection. Il ne pèse plus alors que 1.065 gr., ayant perdu 495 gr. dont une partie peut être imputée à la diarrhée. A remarquer que cet animal a perdu 105 grammes en 19 heures et 390 grammes pour les jours suivants, c'est-à-dire une proportion beaucoup moindre.

Expér. XXIV. — Lapin ♀ blanc, taches jaune clair.
Poids : 2.090 gr.
Injection de 0,6 c. c. par kilogramme de sérum de lapin immunisé.
10 minutes après, injection de 0,3 c. c. de sérum de torpille.
Pas d'accidents.
Poids 48 heures après : 1.920 gr.
Perte : 170 gr.

Expér. XXV. — Lapin ♀ gris roux. Poids : 2.135 gr.
A 4 h. 40, injection de 0,8 c. c. par kilogramme de sérum de lapin immunisé.
4 h. 55. Injection de 0,4 c. c. de sérum de torpille.
5 h. 50. Polypnée, l'animal est inquiet.
6 h. 10. Myosis à droite, la polypnée est intense.
Poids 24 h. 20 après l'injection : 1.890 gr.
Perte : 245 gr.
Dans cette expérience où la polypnée a été très marquée, la perte de poids a été beaucoup plus grande que dans les autres.
3 jours après l'injection, l'animal pèse 1.760 gr., n'ayant perdu en deux jours que 130 gr., alors qu'il en avait perdu 245 pendant les premières 24 heures.
Le 4e jour, le poids remonte, il est à 1.790.

Expér. XXVI. — Lapin ♀ roux, taches blanches sur le front.
Poids : 1.940 gr.
3 h. 16. Injection de 0,4 c. c. par kilog. de sérum de lapin immunisé.
3 h. 47. Injection de 0,2 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.
3 h. 50. Myosis. L'animal est inquiet.
4 h. Myosis très marqué, l'animal reste immobile.
24 heures après l'injection, poids : 1.810 gr. Perte : 130 gr.
Train postérieur paralysé.
Le troisième jour, l'animal est paralysé et n'a pas mangé.
Paralysie vésicale.
Poids : 1.700 gr. Perte 110 gr.
Le 4e jour, même état.
Poids : 1.650 gr. Perte 50 gr.
Mort le 5e jour. Poids : 1.435 gr.
Perte de poids totale : 505 gr., dont 130 gr. pour les vingt-quatre premières heures et 375 gr. pour les quatre autres jours, soit 100 gr. environ par vingt-quatre heures.
Dans les deux expériences suivantes, il s'agit d'animaux qui, ayant reçu en injection dans le liquide céphalo-rachidien du sérum de lapin immunisé et du sérum de torpille, ont survécu.

Expér. XXVII. — Lapin ♀ blanc, train postérieur gris.
Poids : 1.740 gr.
3 h. 13. Injection de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.
3 h. 15. Série de défécations.
3 h. 16. Dyspnée, agitation.
3 h. 19. Course arrêtée par de brusques chutes sur les pattes, qui se paralysent. Myosis.
3 h. 24. Polypnée.
23 h. 10 après l'injection, paralysie complète.
Poids : 1.565 gr. Perte 175 gr.
48 heures après l'injection, même état.
Poids : 1.480 gr. Perte : 85 gr.
3e jour, l'animal est inerte, tombe sur le flanc.
Poids : 1.390 gr. Perte : 90 gr.
4e jour. Poids : 1.290 gr. Perte : 100 gr.
La perte de poids pour les jours suivants, à l'exception des premières 24 heures, est à peu près constante pour chaque jour.

Expér. XXVIII. — Lapin ♀, blanc tacheté jaune.
Poids : 1.990 gr.
3 h. 27. Injection de 0,3 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.
3 h. 30. Série de défécations, l'animal reste immobile dans un coin, inquiet.
3 h. 34. Il s'allonge, tête penchée.
3 h. 41. Course rapide, myosis, salivation.
3 h. 42. Polypnée, vaso-dilatation auriculaire.
3 h. 45. Polypnée intense.
4 h. 15. Toujours fortement polypnéique, l'animal se remue péniblement. Le myosis est dissipé. Paralysie complète.
Poids 21 h. 30 après l'expérience : 1.810 gr. Perte : 180 gr.
2 jours après, 1.760 gr. Perte : 50 gr. Température : 29°,5.
3 jours après, 1.680 gr. Perte : 80 gr. Température : 27°,3.
4e jour. Mort. Poids : 1.640 gr. Perte : 40 gr.
Au total, la perte a été de 350 gr., dont 180 gr. pour le 1er jour et 170 gr. pour les autres jours.

Une seule expérience a été faite avec le sérum de roussette. Les phénomènes toxiques ont été très peu marqués, mais la perte de poids a été aussi forte.

Expér. XXIX. — Lapin ♀ gris, ventre blanc. Poids : 2.580 gr.
5 h. 4. Injection dans la veine de l'oreille de 8 c. c. de sérum. Après l'injection, dyspnée de quelques minutes, puis parésie du membre postérieur gauche.

24 heures après, état normal.
Poids : 2.360 gr. Perte : 220 gr.

Tels sont, dans leurs grandes lignes, les phénomènes observés après injection de sérum toxique. Les observations portent sur des périodes de vingt-quatre heures en moyenne, de quinze heures au minimum. Nous voyons que l'abaissement du poids n'est pas en relation directe de cause à effet avec les phénomènes généraux constatés et que, le plus souvent, il est maximum lorsque les accidents nerveux sont au maximum.

Nous rechercherons de quel processus relève cette perte de poids.

CHAPITRE II

MÉCANISME DE LA PERTE DE POIDS SOUS L'INFLUENCE DES INJECTIONS DE SÉRUM TOXIQUE

Il fallait d'abord déterminer suivant quelle progression se fait la perte de poids constatée dans les expériences précédentes. Pour cela, nous avons pris d'heure en heure le poids des animaux en expérience. Nous avons ainsi pu constater qu'elle a lieu très peu de temps après l'injection et qu'elle est progressivement décroissante ; que, pour une intensité trop forte des phénomènes nerveux, la chute du poids est atténuée, et cela d'autant plus que la mort sera plus rapide. Pour une dose trop massive enfin, on ne constate aucun changement. Nous avons eu en vue principalement les accidents consécutifs à l'injection dans le liquide céphalo-rachidien ; et dans les expériences suivantes nos animaux seront inoculés par ponction de la membrane occipito-atloïdienne.

C'est en effet par ce procédé que les phénomènes les plus caractéristiques ont été obtenus. Étant donnée la difficulté d'obtenir du sérum de torpille, et de plus, la disparition rapide de la toxicité de celui-ci, quels que soient les soins apportés à sa conservation, nous avons eu recours presque toujours au sérum d'anguille.

Expériences personnelles.

Expér. I. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.675 gr.

A 9 h. 28. Injection de 0,026 c. c.

9 h. 32. Excitation, course, myosis.

9 h. 40. Salivation abondante.

9 h. 52. A l'excitation a succédé l'immobilité ; l'animal reste étendu sur le ventre.

10 h. 4. La polypnée apparaît.

10 h. 15. La polypnée est intense.

10 h. 25. Résolution musculaire. La polypnée persiste. Poids : 2.630 gr.

10 h. 45. L'animal est dans le même état.

11 h. 25. Crises tétaniques, convulsions cloniques et toniques. Poids : 2.600 gr.

11 h. 50. Aux crises convulsives a succédé la torpeur.

12 h. 25. Coma et dyspnée. Poids 2.583 gr.

12 h. 32. Mort.

L'animal a rendu 25 gr. de fèces. Déduction faite de celles-ci, la perte de poids totale a été de 67 gr. se décomposant ainsi :

1re heure	45	grammes
2e heure	30	—
3e heure	17	—

A l'autopsie, le bulbe était intact ; la mort est donc bien due à l'action du sérum.

Expér. II. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.623 gr.

A 2 h. 30. Injection de 0,026 c. c. de sérum.

2 h. 33. Phase d'excitation intense, mais très courte, l'animal se débat sur place, essaie de courir.

2 h. 36. Salivation.

2 h. 42. Polypnée de peu de durée.

2 h. 50. Myosis ; dyspnée.

3 h. 2. Convulsions, mort. Poids : 2.617 gr.

Perte totale : 6 gr.

A l'autopsie, bulbe intact.

Expér. III. — Lapin ♀ gris. Poids : 3.413 gr.

11 h. Injection de 0,017 c.c., soit un demi-centième de centimètre cube par kilogramme. Étant donnée, en effet, la toxicité du sérum, on

a dû réduire la dose de moitié afin de pouvoir observer des phénomènes de plus longue durée.

11 h. 8. Phase d'excitation très peu marquée.
11 h. 15. L'animal paraît inquiet.
11 h. 18. La polypnée apparaît. Myosis.
11 h. 30. Salivation abondante.
11 h. 40. La polypnée est très marquée, pas d'autres accidents.
12 h. 35. Polypnée persistante. Poids : 3.365 gr.
1 h. 35. Polypnée. Poids : 3.315 gr.
2 h. 35. La polypnée a toujours la même intensité. Poids : 3.246 gr.
3 h. 35. La polypnée s'atténue. Poids : 3.245 gr.
4 h. 35. La polypnée est très légère. Poids : 3.237 gr.
5 h. 35. La polypnée est très peu sensible. Poids : 3.232 gr.

Pas de perte d'urine. Perte de fèces : 3 gr. 42. Déduction faite de celles-ci, la perte de poids totale est de 177 gr. 58 se décomposant comme suit :

1re heure	48	grammes
2e heure	50	—
3e heure	50	—
4e heure	20	—
5e heure	8	—
6e heure	5	—

Le lendemain de l'expérience, l'animal pèse 3.203 gr., ayant perdu 210 gr. en 24 heures. D'où il faut déduire 31 gr. de fèces. De plus, il n'a absorbé que 192 gr. de sa ration alimentaire composée de 200 gr. de carottes et 50 gr. d'avoine.

Expér. IV. — Lapin ♂ gris. Poids : 2.358 gr.
10 h. 30. Injection de 0,012 c.c.
10 h. 32. Accidents nerveux intenses. Course, convulsions.
10 h. 38. Immobilité, myosis, exorbitisme.
10 h. 40. Polypnée.
11 h. Dyspnée. L'animal est étendu et immobile.
11 h. 15. Mort. L'animal pesé aussitôt donne 2.321 gr.
Il a émis 15 gr. de fèces. Perte de poids : 22 gr.
A l'autopsie, le bulbe est intact.

Expér. V. — Lapin ♀ gris. Poids : 3.318 gr.
2 h. 30. Injection de 0,33 c.c.
Aucun phénomène d'excitation.
2 h. 45. La polypnée apparaît. L'animal est tranquille. Cet état persistera jusqu'à la fin de l'expérience.

3 h. 30. La polypnée est très intense. Poids : 3.235 gr.
4 h. 30. La polypnée persiste. Poids : 3.193 gr.
5 h. 30. La polypnée est moins accentuée. Poids : 3.181 gr.
6 h. 30. La polypnée est très atténuée. Poids : 3.177 gr.

La perte de poids en 4 heures est donc de 141 gr., se répartissant ainsi :

1re heure	83 grammes
2e heure	42 —
3e heure	12 —
6e heure	4 —

La température prise à ce moment est de 37°,6.

L'animal a, durant l'expérience, émis 2 gr. de fèces.

Le lendemain, le poids est de 3.142 gr. La perte a donc été de 176 gr. en 24 heures, desquels il faut déduire 26 gr. de fèces.

Expér. VI. — Lapin ♀ gris. Poids : 3.395 gr.
3 h. Injection de 0,2 c.c. par kilogramme, soit 0,66 c.c.
3 h. 5. Phénomènes d'excitation très intenses, course. Myosis très accentué, exorbitisme. Polypnée de très courte durée, puis dyspnée.
3 h. 15. Paralysie.
3 h. 17. Mort. Poids aussitôt après : 3.350 gr.
Perte d'urine : 29 gr. Perte de fèces : 2 gr.
La diminution de poids a été de 14 gr.

Expér. VII. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.960 gr.
4 h. 7. Injection de 0,029 c. c.
4 h. 10. Agitation extrême, course.
4 h. 15. Phénomènes convulsifs. Myosis.
4 h. 30. L'animal reste allongé et immobile.
4 h. 38. La polypnée apparaît.
5 h. A la polypnée succède de la dyspnée.
5 h. 30. Cet état persiste.
5 h. 50. Mort. Poids : 2.937 gr.
Élimination de fèces : 2 gr. 16.
Perte de poids : 20 gr. 84.

Expér. VIII. — Lapin ♀ jaune. Poids : 3.528 gr.
3 h. 36. Injection de 0,015 c.c. par kilogramme, soit 0,0425 c.c.
3 h. 38. Agitation, course, exorbitisme, myosis.
3 h. 45. Paralysie du train postérieur.
3 h. 55. Dyspnée très accentuée.
4 h. 5. Mort. Poids : 3.521 gr. Fèces : 3 gr. 25.
Perte de poids : 3 gr. 75.

Expér. IX. — Lapin ♀ blanc tacheté de gris. Poids : 2.925 gr.
1 h. 47. Injection de 0,01 c.c. par kilogramme, soit 0,029 c.c.
1 h. 50. Pas de phénomènes d'excitation.
2 h. Inégalité pupillaire.
2 h. 5. Dyspnée de très courte durée.
2 h. 15. Polypnée très marquée.
2 h. 50. La polypnée persiste. Poids : 2.882 gr.
3 h. 50. L'animal est toujours polypnéique. Poids : 2.843 gr.
4 h. 50. La polypnée s'atténue. Poids : 2.835 gr.
5 h. 50. La polypnée est à peine sensible. Poids : 2.831 gr.
D'heure en heure, l'animal en expérience a donc perdu :

1re heure	43	grammes
2e heure	39	—
3e heure	8	—
4e heure	4	—

Soit, au total, 94 gr.

24 heures après l'expérience, l'animal pèse 2.646 gr., ayant perdu 279 gr. depuis l'injection. L'animal ne prend aucune nourriture et, cet état persistant les jours suivants, l'amaigrissement s'ensuit.

Expér. X. — Lapin ♂ gris. Poids : 3.200 gr.
11 h. 29. Injection de 0,015 c.c. par kilogramme, soit 0,048 c.c.
11 h. 31. Course. Exorbitisme. Salivation.
11 h. 36. Dyspnée.
11 h. 55. Polypnée.
12 h. 5. Nystagmus, convulsions.
12 h. 15. Mort. Poids : 3.185 gr.
Perte : 15 gr.

Expér. XI. — Lapin ♀ rouge. Poids : 3.155 gr.
2 h. 37. Injection de 0,01 c.c. par kilogramme, soit 0,031.
2 h. 39. Course de très peu de durée, puis paralysie des quatre pattes. Agitation. Efforts pour fuir.
2 h. 42. Exorbitisme, myosis.
2 h. 45. Polypnée.
3 h. Mouvements convulsifs.
3 h. 15. Cornage.
3 h. 30. La polypnée a disparu pour faire place à la dyspnée.
3 h. 55. Mort. Poids aussitôt après : 3.127 gr.
Perte : 28 gr.

Les expériences suivantes ont été faites avec le sérum de tor-

pille, et les injections ont été de 1 dixième de centimètre cube par kilogramme, c'est-à-dire une dose dix fois plus élevée que pour le sérum d'anguille.

Expér. XII. — Lapin ♀ blanc, taches grises. Poids : 2.490 gr.
3 h. 44. Injection de 0,10 c. c. par kilogramme.
3 h. 55. Agitation très peu marquée.
3 h. 58. Polypnée, myosis, salivation.
4 h. 8. La polypnée persiste. Poids : 2.442 gr.
Émission d'urines : 10 gr. Fèces : 2 gr.
4 h. 15. La polypnée disparaît; de la dyspnée succède.
4 h. 44. Poids : 2.439 gr.
Perte de poids en 24 minutes avec polypnée, 48 gr. ; en 29 minutes avec dyspnée, 3 gr.
Le lendemain de l'expérience, l'animal est paralysé du train de derrière et a de la diarrhée, il pèse 2.354 gr., ayant perdu 136 gr. depuis l'injection.
24 heures plus tard, il est trouvé mort dans sa cage.

Expér. XIII. — Lapin ♀ blanc, taches rouges. Poids : 3.248 gr.
3 h. 31. — Injection de 0,15 c. c. par kilogramme.
3 h. 35. Emission de 16 gr. d'urine. Pas d'excitation.
3 h. 38. Polypnée.
3 h. 50. Myosis. Salivation. Immobilité.
4 h. 15. La polypnée persiste.
4 h. 30. L'animal est toujours polypnéique. Poids : 3.180 gr.
5 h. 30. Respiration également rapide. Poids : 3.130 gr.
6 h. 30. La polypnée ne s'est pas atténuée. Poids : 3.082 gr.
D'heure en heure l'animal a perdu :
1re heure : 54 gr., déduction faite de 16 gr. d'urine.
2e heure : 50 gr.
3e heure : 48 gr.
Au total : 152 gr.
Le lendemain, à 2 h. 30, l'animal est très dyspnéique ; il pèse 3.005 gr., ayant perdu 243 gr. depuis l'injection. Il n'a émis ni urines ni fèces et meurt à 2 h. 40.
A l'autopsie, le bulbe est reconnu intact.

Expér. XIV. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.640 gr.
3 h. 40. Injection de 0,15 c. c. par kilogramme.
On n'observe aucune période d'excitation.
3 h. 50. Myosis. Polypnée.

4 h. L'animal est inquiet. Il se tient immobile, la tête tournée à gauche. Poids : 2.620 gr.

4 h. 40. La polypnée persiste. Poids : 2.603 gr.

5 h. 40. Polypnée. Immobilité. Poids : 2.562 gr.

6 h. 15. La polypnée s'atténue. Poids : 2.547 gr.

Perte de poids : 93 gr., se décomposant ainsi :

1re heure : 37 gr., dont 20 gr. pour les vingt premières minutes.

2e heure : 41 gr.

3e heure : 15 gr.

Le lendemain de l'injection, l'animal présente de la paralysie du train postérieur et a avorté. Il s'est rétabli dans la suite.

Il ressort de ces expériences que la perte de poids n'est pas un phénomène de désassimilation lente, mais qu'il apparaît au contraire très rapidement, qu'il atteint son maximum une heure environ après l'injection et, décroissant ensuite, ne persiste pas au delà de quelques heures.

CHAPITRE III

RECHERCHES QUANTITATIVES SUR LES ÉLÉMENTS DE L'URINE

Le mécanisme de la perte de poids étant établi, il importait de rechercher si dans les éléments de l'urine une élimination plus abondante ne pourrait expliquer en totalité ou en partie les pertes subies par les animaux en expérience. Et tout d'abord étions-nous fondé, d'après les phénomènes toxiques relatés, à orienter de ce côté nos recherches? Au système nerveux appartiennent les accidents consécutifs à l'injection de sérum toxique (polypnée, dyspnée, vaso-dilatation, salivation, excitation, crises convulsives, paralysie, myosis), et le bulbe y participe pour beaucoup. En effet, c'est par une action sur les noyaux d'origine du pneumogastrique que s'expliquent les troubles respiratoires; on a localisé dans le bulbe le centre vaso-moteur; une piqûre du plancher du 4e ventricule en arrière de l'origine du trijumeau provoque une sécrétion salivaire intense; c'est de la région bulbo-protubérantielle que proviennent les fibres sécré-

toires et trophiques de la glande sous-maxillaire. Or, Claude Bernard, dans une série d'expériences restées célèbres, put démontrer que sur le lapin la piqûre du plancher du 4e ventricule, entre les origines de l'acoustique et celles du vague, provoque une glycosurie passagère. D'autres physiologistes après lui observèrent le même phénomène consécutivement aux lésions les plus diverses du système nerveux; les lésions des olives bulbaires (Becker), des couches optiques, de la protubérance, de la moelle cervicale (Schiff), du vermis cérébelleux (Eckhard), provoquent également une glycosurie passagère. Plus récemment, Chauveau et Kaufmann sont arrivés à déterminer comment agissent ces diverses excitations du système nerveux; elles retentissent sur une série de centres qui siègent dans le bulbe et dans la partie de la moelle située entre le bulbe et la 3e vertèbre cervicale. Ces centres ont des actions complexes qui toutes contribuent à maintenir la teneur normale du sang en sucre :

1° Ils excitent la sécrétion du glycose par le foie;

2° Ils modèrent la sécrétion interne du pancréas, laquelle s'oppose à l'hyperglycosurie (?);

3° Ils modèrent l'histolyse, c'est-à-dire la destruction des tissus qui, lorsqu'elle est trop abondante, fournit au foie des matériaux propres à former du sucre en quantité considérable et par suite amène l'hyperglycosurie. Toute excitation portée sur sur ces centres provoquera donc la glycosurie par un mécanisme très complexe en augmentant l'activité du foie, en multipliant les matériaux propres à former du sucre, en diminuant la sécrétion interne du pancréas. Cette glycosurie peut être très abondante et atteindre 100 gr. à 500 gr. par jour.

Les impressions les plus diverses d'ailleurs augmentent la quantité du sucre contenu dans le sang et provoquent la glycosurie. On connaît, en effet, la glycosurie émotive. Le traumatisme ou le choc traumatique engendrent parfois la glycosurie transitoire ou le diabète permanent. Dans tous ces cas, la glycosurie est de nature réflexe, mais l'influence nerveuse qui tient le phénomène sous sa dépendance peut avoir une origine

centrale. La pathologie nous apprend que les hémorragies et les tumeurs cérébrales sont souvent suivies du passage du sucre dans les urines.

Ainsi se trouvent rapportées à une origine nerveuse les pertes de poids énormes subies par les diabétiques.

Cette action, d'ailleurs, ne se borne pas aux hydrates de carbone et les composés azotés eux-mêmes sont tributaires par leur élimination du système nerveux. L'observation journalière montre que ce dernier exerce une influence incontestable sur les métamorphoses des matières protéiques. On connaît, en effet, les modifications importantes de l'appétit, suivant que le sujet est en état de bonne ou de mauvaise humeur : c'est que la gaîté active les métamorphoses et que la tristesse les ralentit. Böcker[1] vit un homme perdre à la suite d'une grande joie 1.159 gr. en 24 h.; on trouva dans l'urine 87 gr. de matières solides dont 40 gr. d'urée. L'excrétion de l'urine monta en 6 h. de 350 c.c. à 900 c.c., et la densité s'éleva à 1.027 et 1.041,5.

Les excitations nerveuses élèvent le taux de l'urée; de même que certains diabètes sucrés relèvent d'un trouble de la nutrition, il existe des diabètes azoturiques qui sont dus également à des modifications nutritives par influence nerveuse. Lancereaux a publié une statistique qui porte sur 72 cas de diabète azoturique : 21 fois les causes ne sont pas indiquées, 35 fois l'influence nerveuse s'est fait sentir; dans ces cas, l'élimination d'urée est énorme et peut aller jusqu'à 130 gr. en 24 h.; une polyurie intense (10,12 litres et même plus) l'accompagne.

De même que du diabète azoturique, on observe du diabète phosphaturique, et Teissier a pu enregistrer des éliminations de 10, 15, 20 gr. et plus dans cette affection, à laquelle on attribue une origine nerveuse.

A tout moment, la clinique révèle l'étendue d'action que possède le système nerveux à l'égard de l'élimination urinaire; c'est ainsi que l'acide phosphorique varie dans de grandes proportions chez les paralytiques généraux et les épileptiques.

1. Cité d'après Bouchard, *Pathol. générale*, t. III, Ire partie, p. 446 à 449.

Il n'est pas jusqu'à l'élimination des chlorures qui ne soit sous la dépendance du système nerveux; non seulement on observe de l'hyperchlorurie dans le diabète insipide, le diabète azoturique; mais elle accompagne encore la polyurie succédant aux crises d'épilepsie; on l'a en outre observée dans la paralysie générale à la seconde période et chez les neurasthéniques.

Teissier et Courmont ont signalé un diabète hyperchlorurique. Dans la pelade enfin, à laquelle certains attribuent une origine nerveuse, on observe une hyperchlorurie intense et de la polyurie au début de la période d'état; le taux d'élimination revient à la normale quand l'affection est en voie de guérison (Jacquet et Portes).

Enfin, par la piqûre du plancher du 4e ventricule, un peu au-dessous du point qui provoque la glycosurie, Claude Bernard a déterminé chez le lapin la polyurie avec albuminurie, et c'est probablement en retentissant sur le bulbe que les lésions des diverses parties des centres nerveux provoquent l'albuminurie. Kahler, en 1885, put beaucoup mieux déterminer le mécanisme de ces accidents; il provoquait des lésions bulbaires chez le lapin en injectant quelques gouttes d'une solution de nitrate d'argent au niveau des points à détruire. Il arriva ainsi à déterminer que les lésions atteignant la partie caudale de la protubérance et la partie ouverte de la moelle allongée, surtout dans le voisinage du corps restiforme, provoquent une polyurie simple avec polydipsie.

De la connaissance de ces faits, nous étions logiquement amené à effectuer systématiquement les analyses tant qualitatives que quantitatives des urines des animaux en expérience.

Sachant, d'autre part, combien est importante l'influence de l'alimentation sur l'excrétion des éléments urinaires, nous devions, pour éviter toute cause d'erreur, n'opérer que sur des animaux soumis à une alimentation toujours la même et en état d'équilibre nutritif. La ration se composait de :

Carottes : 200 gr.

Avoine : 50 gr.

Après 3 jours de ce régime, il était procédé à l'analyse

effectuée sur la totalité des urines de 24 h., et cela pendant 5 jours afin de s'assurer de l'élimination constante.

Nous avons recherché tout d'abord les produits pathologiques.

1° **L'albumine**. — Dans un verre à expérience, nous avons versé une petite quantité d'urine et un excès de sulfate de soude pur; l'urine étant saturée, nous avons versé de l'acide acétique au dixième, jusqu'à réaction nettement acide. L'urine ainsi traitée a été filtrée, puis chauffée jusqu'à commencement d'ébullition; dans ces conditions, l'apparition d'un trouble et à plus forte raison d'un coagulum indique la présence de l'albumine.

2° **La glycose**. — L'urine a été déféquée par une solution d'acétate neutre de plomb, puis filtrée jusqu'à limpidité parfaite. Dans un tube à essai, quelques centimètres cubes d'urine étant portés à l'ébullition, on verse à la surface une petite quantité d'urine déféquée. La présence de glycose se manifeste par la réduction de la liqueur cupropotassique et la formation d'un précipité rouge brique d'oxydule de cuivre.

Ces deux opérations, effectuées systématiquement sur les urines recueillies, ont toujours été négatives. Donc, en aucun cas, il n'y a eu glycosurie ou albuminurie.

Nous avons alors procédé au dosage des éléments normaux

Nous avons pris la densité, correction faite pour la température de 15°. Puis, le volume de 24 h. ayant été déterminé, nous avons fait l'analyse quantitative des corps suivants.

3° **L'urée**. — Les dosages ont été effectués après défécation au sous-acétate de plomb et filtration. Nous avons eu recours à la décomposition par l'hypobromite de soude et employé l'uréomètre d'Yvon.

Nous avons opéré comparativement, avec une solution titrée d'urée, afin d'éviter les erreurs provenant des variations de température et de pression.

4° **Les phosphates** ont été dosés par la liqueur titrée d'urane en présence d'acétate de soude acétique. L'indicateur était le ferrocyanure de potassium.

5° **Les chlorures**. — La méthode employée est celle de Charpentier-Volhard, dont le principe consiste à précipiter le chlore par un poids connu de nitrate d'argent, et à doser ensuite l'excès de ce sel au moyen du sulfocyanure de potassium. L'indicateur est l'alun de fer. L'urine ayant été préalablement additionnée d'acide azotique, on opère en milieu acide et élimine par là même les causes d'erreur dues à la présence des phosphates et des oxalates.

Voici les résultats des expériences, étant entendu qu'il s'agit toujours de l'émission des 24 h.

EXPÉR. I. — Lapin gris ♀.

Analyse des urines avant l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	URÉE	PHOSPHATES	CHLORURES
	kil.	cm³.				
1er jour. .	3 376	118	1,020	1,356	0,232	0,610
2e jour . .	3 380	89	1,021	1,335	0,89	0,582
3e jour . .	3 378	128	1,019	1,347	0,83	0,482
4e jour . .	3 380	60	1,017	1,215	0,242	0,42
5e jour . .	3 413	120	1,017	1,200	0,236	0,391

Le cinquième jour, on fait à l'animal une injection dans le liquide céphalo-rachidien de un demi-centième de centimètre cube par kilogramme de sérum d'anguille, soit 0,017 c.c. On constate en 8 h. une perte de poids de 177 gr.

Le lendemain de l'expérience, l'animal pèse 3.203 gr., ayant perdu 210 gr. en 24 h. Il a absorbé 192 gr. de nourriture et éliminé 31 gr. de fèces. Les jours suivants, la ration est entièrement utilisée.

Analyse des urines après l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	URÉE	PHOSPHATES	CHLORURES
	kil.	cm³.				
1er jour. .	3 203	82	1,020	0,77	1,025	0,372
2e jour . .	3 285	114	1,022	1,915	0,319	0,506
3e jour . .	3 325	82	1,032	1,664	0,266	0,355
4e jour . .	3 316	146	1,015	2,134	0,262	0,290
5e jour . .	3 296	118	1,020	1,298	0,234	0,312

L'animal n'a jamais eu de diarrhée.

Le lendemain de l'injection, on a observé une moindre élimination de l'urée, dont le taux est tombé de 1 gr. 20 à 0 gr. 77, et une légère phosphaturie, 1 gr. 025 au lieu de 0 gr. 23.

Le surlendemain, l'urée et les phosphates sont revenus à la normale et l'animal commence à reprendre du poids.

Expér. 11. — Lapin gris ♀.

Analyse des urines avant l'injection.

	POIDS de l'animal — kil.	VOLUME des urines — cm³.	DENSITÉ à 15° —	URÉE —	PHOSPHATES —	CHLORURES —
1er jour. .	3 342	92	1,015	1,030	0,250	0,271
2e jour . .	3 350	86	1,024	1,315	0,241	0,401
3e jour . .	3 370	110	1,020	1,15	0,33	0,521
4e jour . .	3 346	88	1,021	1,65	0,29	0,391
5e jour . .	3 318	138	1,024	2,042	0,220	0,344

Le cinquième jour, injection intra-rachidienne de 1/100 de centimètre cube par kilogramme de sérum d'anguille, soit 0,33 c. c. Perte de poids en 4 heures, 141 gr. Poids le lendemain de l'injection, 3.142 gr.; perte en 24 h., 176 gr.

Élimination des fèces, 26 gr. Nourriture absorbée, 215 gr. Les jours suivants, la ration entière est prise. L'animal n'a jamais présenté de diarrhée.

Analyse des urines après l'injection.

	POIDS de l'animal — kil.	VOLUME des urines — cm³.	DENSITÉ à 15° —	URÉE —	PHOSPHATES —	CHLORURES —
1er jour. .	3 142	60	1,030	1,099	0,126	0,24
2e jour . .	3 237	80	1,025	1,602	0,271	0,32
3e jour . .	3 293	96	1,022	1,325	0,365	0,47
4e jour . .	3 322	102	1,019	1,231	0,282	0,42
5e jour . .	3 342	78	1,024	1,125	0,301	0,39

De même que lors de l'expérience n° I, on trouve de légères variations : 1.099 d'urée au lieu de 2.042 la veille, chiffre élevé, il est vrai ; 0 gr. 24 de chlorures au lieu de 0 gr. 34; phosphates, 0 gr. 12 au lieu de 0 gr. 22.

48 heures après l'injection, élimination normale.

Expér. III. — Lapin blanc ♀, oreilles grises, taches grises.

Analyse des urines avant l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	URÉE	PHOSPHATES	CHLORURES
	kil.	cm³.				
1er jour. .	2 938	76	1,031	1,35	0,175	0,26
2e jour . .	2 935	89	1,029	1,38	0,20	0,27
3e jour . .	2 942	92	1,028	1,33	0,165	0,19
4e jour . .	2 934	102	1,026	1,42	0,192	0,315
5e jour . .	2 925	80	1,032	1,552	0,185	0,22

Le cinquième jour, injection dans le liquide céphalo-rachidien de 1/100 de centimètre cube par kilogramme de sérum d'anguille, soit 0,029 c. c.

Perte de poids en 4 heures, 94 gr.

24 h. après l'injection, l'animal pèse 2.646 gr., ayant perdu 279 gr. Élimination de fèces, 34 gr. Pas de diarrhée.

L'animal n'a pris aucune nourriture, sa ration est intacte. Il en sera de même les jours suivants, et la perte de poids ira s'accentuant, ainsi que l'établit ce tableau.

Analyse des urines après l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	URÉE	PHOSPHATES	CHLORURES
	kil.	cm³.				
1er jour. .	2 646	90	1,021	1,89	0,14	0,157
2e jour . .	2 467	114	1,028	5,429	0,615	0,133
3e jour . .	2 390	100	1,027	4,13	0,52	0,17
4e jour . .	2 278	92	1,026	3,55	0,48	0,15
5e jour . .	2 250	103	1,025	2,925	0,37	0,16

On constate les pertes de poids suivantes : 179 gr., le 2e jour; 77 gr., le 3e jour; 112 gr., le 4e jour; 28 gr., le 5e jour.

Dès le second jour, la densité augmente, le taux de l'urée s'élève dans d'énormes proportions et passe de 1 gr. 89 à 5 gr. 429; le 3e jour, il est de 4 gr. 13; le 4e jour, 3 gr. 55; le 5e jour, 2 gr. 925. L'élimination des phosphates s'accentue et suit les variations de l'urée; on note 0 gr. 14, le 1er jour; 0 gr. 615, le 2e jour; 0 gr. 52, le 3e jour; 0 gr. 48, le 4e jour; 0 gr. 37, le 5e jour.

Ces résultats pourraient de prime abord être imputables à

l'action du sérum d'anguille ; mais, de l'observation de l'animal, il résulte qu'il n'a pris aucune nourriture durant les trois jours qui suivirent l'injection ; le quatrième jour, on change sa nourriture et on lui donne du foin ; l'animal s'alimente de nouveau, et à partir de ce moment l'élimination de phosphates et d'urée diminue. Nous avons donc assisté à des phénomènes d'inanition. Nous savons, en effet, qu'un animal privé de nourriture consomme ses réserves, et que les protéiques et les graisses font avec le glycogène (celui-ci du moins pendant les deux ou trois premiers jours) les frais de la dépense. Les hydrates de carbone et les graisses sont éliminés à l'état d'eau et d'acide carbonique par la surface pulmonaire ; les protéiques à l'état d'urée. Or, chez l'animal soumis au jeûne absolu, la quantité d'azote éliminée diminue d'un jour au suivant pendant les premiers jours de l'inanition, et c'est, en effet, ce que nous avons constaté ; puis l'équilibre s'établit et persiste jusqu'à la mort, quoique tout en diminuant très légèrement.

De plus, l'élimination azotée abondante n'a pas eu lieu immédiatement après l'injection et simultanément aux accidents et à la perte de poids, mais seulement le surlendemain, alors que l'animal avait épuisé les matériaux de nutrition absorbés la veille.

Cette expérience, de même que les deux précédentes, est donc négative.

Expér. IV (due à l'obligeance du Dr Gaillardot). — Lapin ♂, qui reçoit comme alimentation 200 gr. de carottes et 50 gr. d'avoine. Il est à ce régime depuis 15 jours, lorsqu'on a procédé à la première analyse. Jusqu'au jour où a été faite l'injection, il a toujours absorbé la totalité de sa ration.

Analyse des urines avant l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	CHLORURES	PHOSPHATES	URÉE
	kil.	cm³.				
1er jour. .	2 760	138	1,018	0,0242	0,210	1,664
2e jour . .	2 780	180	1,015	0,0316	0,1375	0,785
3e jour . .	2 710	104	1,021	0,821	0,2125	1,365
4e jour . .	2 740	112	1,020	0,131	0,1176	1,3729
5e jour . .	2 770	100	1,022	0,234	0,143	1,640
6e jour . .	2 740	140	1,017	0,1965	0,374	1,1407
7e jour . .	2 730	175	1,018	0,2252	0,183	1,4906
8e jour . .	2 750	144	1,017	0,3453	0,220	1,658
9e jour . .	2 760	118	1,022	0,1518	0,1469	0,786
10e jour . .	2 760	136	1,018	0,1591	0,136	1,541
11e jour . .	2 780	174	1,017	0,1221	0,1424	1,218

Le 12e jour, on fait à l'animal une injection *intraveineuse* (dans la veine marginale de l'oreille) de 1/10 de centimètre cube par kilogramme de sérum d'anguille.

24 h. après l'injection, l'animal a perdu 160 gr.; il n'a pas absorbé sa ration entière et a laissé 15 gr. de carottes.

Les urines sont brun foncé et contiennent de l'hémoglobine; après l'injection, l'analyse donne les résultats suivants :

Analyse des urines après l'injection.

	POIDS de l'animal	VOLUME des urines	DENSITÉ à 15°	CHLORURES	PHOSPHATES	URÉE
	kil.	cm³.				
1er jour. .	2 620	158	1,019	0,3973	0,1221	1,580
2e jour . .	2 670	83	1,025	0,3398	0,2324	1,559
3e jour . .	2 710	98	1,023	0,1146	0,0931	1,4123
4e jour . .	2 800	197	1,012	0,1728	0,1812	1,796

Dans cette expérience, comme dans les nôtres, nous ne notons, au point de vue de l'élimination urinaire, aucun fait anormal. Les chlorures ont passé de 0 gr. 12 à 0 gr. 39, c'est-à-dire ont subi une élimination trois fois plus forte; mais ce chiffre n'a rien d'anormal, et pour le même animal on a trouvé : 0 gr. 82, le 3e jour; 0 gr. 34, le 8e jour. Les phosphates n'ont pas varié, 0 gr. 14 et 0 gr. 12. L'élimination de l'urée est restée constante, 1 gr. 21 et 1 gr. 58.

Ainsi donc, dans aucune de nos analyses, nous n'avons trouvé la raison de la perte de poids constatée après injection de sérum toxique. Le volume des urines et le taux de l'urée, qui subissent une énorme variation dans les états pathologiques cités et suffisent à expliquer l'amaigrissement, n'ont apporté ici aucune solution au problème. D'autre part, si nous considérons que les animaux en expérience, lorsqu'ils s'alimentent et n'ont pas de diarrhée, reviennent très rapidement à leur poids primitif : le 4e jour dans l'expérience II, le 4e jour également dans l'expérience du Dr Gaillardot, nous n'avons rien là qui soit connexe avec les faits constatés en pathologie.

Enfin, dans les états pathologiques tels que le diabète azoturique où il y a une élimination énorme d'azote, il y a également polyphagie, il y a en outre polydipsie alimentant la polyurie.

Nous n'avons rien constaté de tel chez nos animaux. Les résultats de nos analyses ne font que confirmer et la théorie et l'expérience.

N'ayant rien obtenu de l'analyse des urines, devions-nous nous adresser aux fèces? nous ne l'avons pas cru.

Tout d'abord, nous avons constaté que l'élimination n'en était pas augmentée et qu'elle se maintenait à la normale, soit entre 25 et 35 gr. De plus, l'azote contenu dans les fèces représente les substances alimentaires non absorbées et les substances azotées provenant des déchets épithéliaux du tube digestif et des sucs digestifs; celles-ci sont en quantité infinitésimale par rapport aux substances azotées éliminées par les urines.

Les exemples suivants établissent ce fait[1]. Il s'agit d'une alimentation azotée insuffisante, l'azote excédent étant fourni par les tissus.

1° Un chien, en 49 jours, reçoit 73.500 gr. de viande contenant 2 499 gr. d'azote.

On recueille dans les urines 2.495 gr. et dans les fèces 30 gr. 60 d'azote.

Total . 2.525 gr. 6.

1. Cités d'après Arthus, *Eléments de physiol.*

2° Un chien, en 23 jours, reçoit 34.500 gr. de viande contenant 1.173 gr. d'azote.

On recueille dans les urines 1.163 gr. 50 et dans les fèces 13 gr. 40 d'azote.

Total : 1.176 gr. 9.

3° Un chien, en 58 jours, reçoit 29.000 gr. de viande contenant 986 gr. d'azote.

On recueille dans les urines 943 gr. 70 et dans les fèces 39 gr. 10 d'azote.

Total : 902 gr. 80.

N'ayant dans nos recherches sur les urines et les fèces trouvé aucun élément nous permettant de leur attribuer les pertes de poids constatées, les lapins ne possédant pas d'autre part d'appareil sudoripare, nous étions amenés à nous adresser à la seule fonction d'élimination qui restât, c'est-à-dire à la respiration.

CHAPITRE IV

RECHERCHES SUR LES GAZ DE LA RESPIRATION

Nous avons dit qu'il n'y avait aucune relation entre l'intensité des accidents nerveux et la perte de poids constatée chez les animaux ayant reçu du sérum toxique.

Il en est tout autrement des phénomènes respiratoires; nous avons, en effet, noté que l'injection était toujours suivie de troubles plus ou moins marqués de la respiration.

Les phénomènes généraux sont-ils intenses et la mort rapide? on a une phase très courte de polypnée à laquelle succède rapidement de la dyspnée; si même l'intoxication est trop forte, la polypnée peut faire totalement défaut. Or, dans ces circonstances, la perte de poids est minima.

Nous avons enregistré les chiffres suivants pour les expériences de M. Gley, relatives au sérum de torpille.

Expér. II. — Injection à 11 h. 5.

Perte de poids : 20 gr. en 24 heures. La polypnée, qui s'est mani-

festée à 11 h. 10, atteint son maximum à 11 h. 20 avec 140 respirations par minute. Il n'est plus noté d'accélération respiratoire jusqu'à la fin de l'observation.

Expér. III. — Perte de poids : 55 gr. en 24 heures. On note de la polypnée, puis de la dyspnée.

Expér. VIII. — Injection à 10 heures.

Perte de poids : 60 gr. en 24 heures. La polypnée apparaît à 10 h. 36 avec 108 respirations par minute ; à 10 h. 50, elle s'atténue et ne présente plus que 92 respirations par minute.

Expér. XIII. — Perte de poids : 55 gr. en 24 heures. Il n'a été noté que de la dyspnée.

Expér. XIV. — Perte de poids : 60 gr. en 24 heures. On remarque de la polypnée, mais la durée n'est pas indiquée, elle dut être courte.

Expér. XV. — Perte de poids : 50 gr. en 17 heures.

L'animal a présenté des phénomènes nerveux intenses, des crises convulsives violentes et répétées, mais pas de polypnée marquée.

Expér. XVI. — Perte de poids : 30 gr. en 15 h. 36.

Phénomènes nerveux et dyspnée.

Nos expériences personnelles, relatées au chapitre III, nous ont fourni les chiffres suivants :

Expér. II. — Perte de poids : 60 gr. en 32 minutes.

Phénomènes nerveux intenses, courte phase de polypnée.

Expér. IV. — Perte de poids : 22 gr. en 45 minutes.

Après une phase de polypnée de 20 minutes, l'animal présente de la dyspnée.

Expér. VI. — Perte de poids : 14 gr. en 17 minutes.

Polypnée passagère, puis dyspnée.

Expér. VII. — Perte de poids : 20 gr. 84 en 1 h. 43.

La phase de polypnée a duré 20 minutes et a été suivie de dyspnée

Expér. VIII. — Perte de poids : 3 gr. 75 en 29 minutes.

Phénomènes nerveux intenses, pas de polypnée.

Expér. X. — Perte de poids : 15 gr. en 46 minutes.

Phase de polypnée de 10 minutes de durée.

Expér. XI. — Perte de poids : 28 gr. en 1 h. 18.

Polypnée marquée durant 15 minutes.

Dans les autres expériences où les pertes de poids ont été élevées, la polypnée a été également intense et de longue durée. Nous avons même, dans nos recherches sur le mécanisme de la perte de poids, remarqué que l'intensité de la polypnée et les variations de la balance étaient liées par des rapports étroits et que la diminution du poids était proportionnelle à l'accélération des mouvements respiratoires ; dès que la polypnée a cessé, le poids reste à peu près stationnaire.

Nous avons noté :

Expér. I. — Perte de poids : 67 gr. en 2 h. 57.
Durée de la polypnée : 2 h. 21.

Expér. III. — Perte de poids : 177 gr. 58 en 6 h. 35.
Durée de la polypnée : 6 h. 17.

Expér. IV. — Perte de poids : 141 gr. en 4 heures.
Durée de la polypnée : 3 h. 35.

Expér. IX. — Perte de poids : 94 gr. en 4 h. 3.
Durée de la polypnée : 3 h. 35.

Expér. XII. — Perte de poids en 24 minutes avec polypnée : 26 gr. ; en 29 minutes avec dyspnée : 3 gr.

Expér. XIII. — Perte de poids : 152 gr. en 2 h. 59.
Durée de la polypnée : 2 h. 52.

Expér. XIV. — Perte de poids : 88 gr. en 2 h. 35.
Durée de la polypnée : 2 h. 25.

Les produits de l'exhalation pulmonaire étant l'acide carbonique et la vapeur d'eau, nous procéderons au dosage de ces deux éléments.

1° L'acide carbonique.

« La respiration n'est qu'une combustion lente de carbone et d'oxygène ; les animaux qui respirent sont de véritables corps combustibles, qui brûlent et se consument » (Lavoisier). Les matières, riches en carbone et en hydrogène, introduites dans notre corps par l'alimentation, subissent une série de transfor-

mations et d'oxydations aboutissant finalement à la formation d'eau et d'acide carbonique.

« Chez tous les êtres vivants, le milieu intérieur, qui est un produit de l'organisme, conserve des rapports nécessaires d'échange et d'équilibre avec le milieu cosmique extérieur, mais à mesure que l'organisme devient plus parfait, le milieu organique se spécifie et s'isole en quelque sorte de plus en plus du milieu ambiant » (Cl. Bernard, 2).

« Si l'organisme entier des animaux supérieurs se trouve encore plongé dans le milieu cosmique, exposé aux vicissitudes et aux changements extérieurs, il n'en est plus de même des cellules qui constituent la trame des organes; ils forment un monde qui n'a de rapport qu'avec le milieu intérieur, lequel est constitué par le sang et la lymphe. Or, ce milieu possède une composition constante remarquable, tant au point de vue physique que chimique, et à cet équilibre président divers mécanismes compensateurs. Prenons comme exemple l'appareil chargé de conserver au sang sa teneur en oxygène et en acide carbonique. Y a-t-il excès d'acide carbonique? Immédiatement, les centres nerveux situés dans la moelle allongée et présidant à la respiration entrent en jeu; celle-ci devient plus ample et plus rapide, et cette ventilation pulmonaire plus complète a bientôt rétabli l'équilibre, comblé le déficit en oxygène et éliminé l'acide carbonique en excès » (Fredericq, 3).

Nous nous sommes alors posé la question de savoir si, à la la suite des injections de sérum toxique, il n'y avait pas augmen tation des combustions, consommation intense d'hydrates de carbone et de graisses, et surproduction d'acide carbonique, ces deux points expliquant les deux phénomènes primordiaux : la perte de poids et la polypnée.

Pour effectuer les dosages d'acide carbonique, nous avons employé le procédé suivant :

Nous avons appliqué une muselière à nos animaux, et, à l'aide d'une soupape de Müller, fonctionnant à l'eau, nous avons dirigé l'air exhalé dans des ballons de caoutchouc. Ajoutons que, dans les tubes de la soupape, la colonne d'eau n'était que de 5 mm.

environ, afin de n'apporter que le minimum d'obstacle à la polypnée, M. le professeur Richet ayant en effet démontré qu'un effort à vaincre, à l'inspiration et à l'expiration, entrave celle-ci jusqu'à la rendre nulle.

Le gaz ainsi recueilli est, par l'intermédiaire d'un appareil à déplacement, amené à barboter dans un tube de $0^{m},80$ de longueur, contenant de l'eau de baryte à saturation. Le débit est réglé de façon que le gaz s'échappe bulle à bulle et que l'acide carbonique soit absorbé en totalité; un flacon témoin, contenant également de l'eau de baryte, assurait par sa limpidité la correction de l'opération.

L'appareil à déplacement était constitué par un flacon de 4 litres à une tubulure, muni d'un robinet à sa partie inférieure et rigoureusement gradué. De la quantité d'eau écoulée de ce flacon, on déduit le volume de gaz ayant traversé la solution alcaline.

Enfin, à la fin de l'opération, le volume du gaz recueilli dans le ballon était mesuré par le même appareil à déplacement branché sur une trompe à eau.

Le carbonate de baryte formé était traité par l'acide chlorhydrique à l'ébullition, et le gaz extrait par la pompe à mercure.

On en fait alors la lecture volumétrique, puis, après traitement par la potasse, le volume de gaz restant est déduit du volume de gaz primitivement obtenu. On a ainsi l'acide carbonique et l'acide carbonique seul.

Afin d'avoir des résultats comparables, nous avons recueilli l'air expiré par les animaux avant et après l'injection.

Nous avons obtenu les chiffres suivants :

Expér. I. — Lapin gris ♀. Poids : 3.318 gr. Avant l'injection, l'animal a exhalé, en 30 minutes, un volume de gaz de 39 litres, renfermant 945 c.c. d'acide carbonique, en poids 1 gr. 890, soit 3 gr. 795 en 1 heure, et 1 gr. 15 par kilogramme et par heure.

A 2 h. 30, injection de 0,03 c.c. de sérum d'anguille dans le liquide céphalo-rachidien.

A 3 h. 30, se manifeste une polypnée très intense. On applique à ce moment la muselière et, en 30 minutes, on recueille 55 litres de gaz

renfermant 1.020 c.c. d'acide carbonique, en poids 2 gr. 04, soit 4 gr. 08 en 1 heure et 1 gr. 22 par kilogramme et par heure.

Durant ce temps, l'animal a perdu 42 gr. de 3 h. 30 à 4 h. 30; et l'élimination d'acide carbonique a passé de 3 gr. 795 à 4 gr. 08, soit une différence en plus de 0 gr. 285.

Expér. II. — Lapin blanc ♀, oreilles grises, taches grises. Poids : 2.925 gr.

Gaz recueilli avant l'injection et en 30 minutes, 45 litres, renfermant 716 c.c. d'acide carbonique, en poids 1 gr. 43, soit 2 gr. 866 en 1 heure et 0 gr. 97 par kilogramme et par heure.

A 1 h. 47, injection de 0,029 c.c. de sérum d'anguille dans le liquide céphalo-rachidien.

A 2 h. 50, polypnée très marquée, application de la muselière; on recueille en 30 minutes 60 litres de gaz, renfermant 1.016 c.c. d'acide carbonique, en poids 2 gr. 036, soit 4 gr. 072 en 1 heure et 1 gr. 39 par kilogramme et par heure.

Durant ce temps, de 2 h. 50 à 3 h. 50, la perte de poids a été de 39 gr. et l'élimination d'acide carbonique a passé de 2 gr. 866 à 4 gr. 072, soit une différence en plus de 1 gr. 206.

Expér. III. — Lapin blanc ♀, taches rouges.

Poids : 3.248 gr.

Exhalation normale en 30 minutes, 37 litres, renfermant 974 c.c. d'acide carbonique, en poids 1 gr. 94, soit 3 gr. 89 par heure et 1 gr. 20 par kilogramme et par heure.

Injection, à 3 h. 31, de 0,45 c.c. de sérum de torpille dans le liquide céphalo-rachidien.

A 4 h. 30, polypnée manifeste; gaz recueilli en 30 minutes : 51 litres, contenant 760 c.c. d'acide carbonique, en poids 1 gr. 52, soit 3 gr. 04 en 1 heure et 0 gr. 93 par kilogramme et par heure.

De 4 h. 30 à 5 h. 30, la perte de poids a été de 50 gr. et l'élimination d'acide carbonique a passé de 3 gr. 89 à 3 gr. 04, soit une différence en moins de 0 gr. 85.

Expér. IV. — Lapin gris ♀. Poids : 2.640 gr. Volume de gaz avant l'injection : 36 litres en 30 minutes, ayant fourni 708 c.c. d'acide carbonique, pesant 1 gr. 416, soit 2 gr. 832 en 1 heure et 1 gr. 07 par kilogramme et par heure.

Injection, à 3 h. 40, de 0,39 c.c. de sérum de torpille dans le liquide céphalo-rachidien.

A 4 heures, l'animal est en pleine polypnée et exhale, en 30 minutes, 43 litres d'air, contenant 750 c.c. d'acide carbonique, en poids

1 gr. 50, soit 3 grammes en 1 heure et 1 gr. 13 par kilogramme et par heure.

De 4 heures à 4 h. 40, la perte de poids a été de 17 gr. ; l'acide carbonique a passé de 2 gr. 832 à 3 gr., soit une différence en plus de 0 gr. 178.

Ces chiffres suffisent pour prouver qu'il ne peut évidemment pas s'agir d'une disparition d'hydrates de carbone ou de graisses proportionnelle aux pertes de poids constatées. Nous savons, d'autre part, que la décomposition des composés hydrocarbonés s'accompagne toujours d'un dégagement de chaleur et que c'est grâce à la consommation de ceux-ci que les animaux à sang chaud sortent victorieux de la lutte incessante contre la déperdition par rayonnement.

En effet, en s'oxydant :

1 gr. de protéiques donne 4 calories 10;

1 gr. de graisses donne 9 calories 10;

1 gr. d'hydrates de carbone donne 4 calories 10.

Ou inversement :

1 gr. d'acide carbonique, provenant de la combustion des protéiques, correspond à 2 calories 80; de la combustion des graisses, à 3 calories 30; de la combustion des hydrates de carbone, à 2 calories 50.

Sachant qu'un lapin exhale en moyenne 1 gr. d'acide carbonique par kilogramme et par heure pour une température de 39°,5, quelle ne serait pas l'élévation de la température des animaux en expérience, si la perte de poids était imputable aux oxydations organiques !

Or, non seulement la température n'a jamais dépassé la normale, mais encore elle subit une baisse marquée après l'injection. L'élimination de vapeur d'eau par la surface pulmonaire peut seule expliquer ce phénomène.

2° La vapeur d'eau.

M. le professeur Richet a établi (9) que des animaux placés sur une balance enregistrante perdent à chaque instant une certaine quantité de leur poids et ne subissent une augmentation intermittente que pendant les repas; que le gain d'oxygène compensant à peu près en poids la perte d'acide carbonique, la diminution de poids ne peut être imputable qu'à l'élimination d'eau par la surface pulmonaire. Il est fait abstraction, bien entendu, de l'élimination des urines et des fèces.

Un lapin perd, en moyenne, 1 gr. 75 par kilogramme et par heure; excrétant, en moyenne, environ 1 gr. d'acide carbonique par kilogramme et par heure et absorbant 0 gr. 95 d'oxygène, la perte due aux échanges gazeux n'est que de 0 gr. 05, à peu près négligeable; le reste est de la vapeur d'eau. Or, la quantité de vapeur d'eau exhalée par la surface pulmonaire est proportionnelle à la respiration. « Ce sont donc les mouvements respiratoires qui règlent le plus ou moins de dénutrition ou mieux de déshydradation de l'animal. » Cette élimination aqueuse peut, du fait de l'accélération de la respiration, subir de grandes variations; c'est ainsi qu'un lapin, exhalant normalement 1 gr. 75 par heure et par kilogramme, exhale 6 gr. et 6 gr. 60 si on le place dans une enceinte à température élevée. Cet animal n'ayant pas d'appareil lui permettant l'évaporation cutanée a recours à l'évaporation pulmonaire pour maintenir sa température constante, et accélère alors ses mouvements respiratoires pour suffire à l'élimination aqueuse plus abondante.

Nous assistons au phénomène dénommé par M. Richet « polypnée thermique ». La perte de poids peut être encore plus accentuée, et on l'a vue atteindre chez le chien 11 gr. par kilogramme et par heure.

Enfin, M. Richet cite un cobaye de 205 gr. qui, placé dans une étuve, a perdu :

1re heure.	48 grammes
De la 2e à la 6e heure . . .	19 gr. 60
De la 6e à la 18e heure. . .	11 gr. 80

Soit 52 grammes au bout de 18 heures.

Ce sont là des chiffres auprès desquels ceux que nous avons obtenus n'ont rien d'exagéré.

La chaleur de vaporisation de l'eau à 38° étant de 581 calories, il s'ensuit que nos lapins doivent subir une perte de calories énorme et supérieure à leur production de chaleur. N'ayant pas à lutter contre une élévation de la température extérieure, il s'ensuit que la leur doit baisser; c'est, en effet, ce que nous avons constaté.

Dans les expériences de M. Gley, relatives au sérum de torpille, nous avons noté :

Expér. II. — Température : 32°,7, 5 heures après l'injection.

Expér. III. — Température : 38°,9, 1 h. 13 après l'injection.

Dans ces deux expériences, l'animal est complètement immobile, et on peut attribuer à cet état l'abaissement de la température, tel qu'il résulte de la narcose; mais dans l'expérience suivante, la température sera inférieure à la normale, bien que l'animal ait, 20 m. avant, présenté des phénomènes convulsifs intenses.

Expér. VIII. — Température : 37°,3, 58 minutes après l'injection.
Température : 33°,8, 24 heures après l'injection.
Température : 32°,9, le 3e jour.

L'animal est, il est vrai, paralysé des quatre pattes 1 heure après l'injection; mais, bien que cet état persiste le 6e jour, la température est de 36°,2, c'est-à-dire plus élevée de 3°,3. Or, les 24 premières heures, il a perdu 60 gr. et la baisse de température a été de 5°,7; le 3e jour, elle est de 9/10 de degré et la perte de poids de 15 gr. seulement.

Il semble donc bien qu'il existe une relation évidente entre la perte de poids et la baisse de température.

Expér. XIII. — Température : 32°,8, 2 h. 0 après l'injection.
Température : 26°,3, 24 heures après l'injection.
Perte de poids : 53 gr.

Expér. XIV. — Température : 34°,4, 1 h. 55 après l'injection.
Température : 30°,6, 24 heures après l'injection.
Perte de poids : 60 gr.
L'animal a été paralysé 2 heures après l'injection.

Si nous comparons cette expérience à l'expérience VIII, nous voyons que les deux animaux ont perdu le même poids en des temps égaux, 60 gr. en 24 h.; ils ont été paralysés, le premier 1 h., le second 2 h. après l'injection. Si l'abaissement de la température était dû uniquement à l'immobilité, le lapin de l'expérience VIII devrait avoir une température inférieure à celle du lapin de l'expérience XIV et cela pour deux raisons : tout d'abord, il est paralysé depuis plus longtemps; nous savons, en outre, que la perte de chaleur par rayonnement est d'autant plus grande que les animaux sont plus petits, la radiation calorifique étant proportionnelle à la surface du corps, et pour un même poids du corps (1 kil.) d'autant plus petite que le poids total sera plus grand; or, le lapin de l'expérience VIII pèse 1.070 gr. et sa température est 33°,8; le lapin de l'expérience XIV pèse 2.950 gr. et sa température est 30°,6, 24 h. après l'injection.

Expér. XXI. — Température : 33°,4, 24 heures après l'injection. Paralysé des quatre membres. Perte de poids : 100 gr.

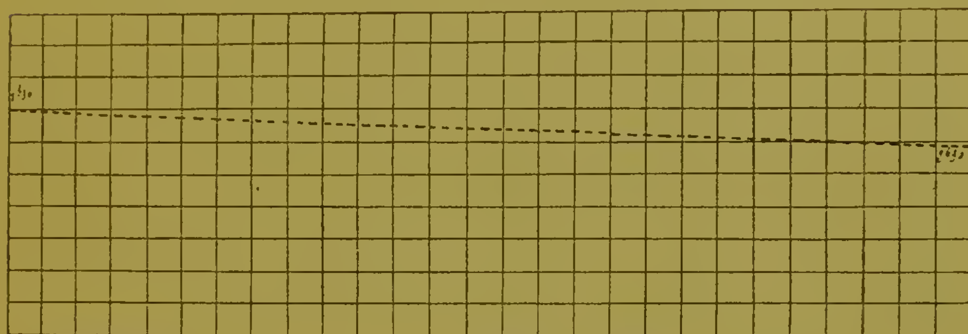
Expér. XXIII. — Température : 34°,5, 22 heures après l'injection. Paralysie du train postérieur. Perte de poids : 145 gr.

Température : 35°,3, 48 heures après l'injection. L'animal est toujours paralysé. Perte de poids : 80 gr. L'état de l'animal restant le même, la température s'est relevée, et le maximum correspond au minimum de perte de poids.

Expér. XXIII. — L'animal étant rétabli, nouvelle injection.
Température : 33°,4, 19 heures après.
Paralysie. Perte de poids : 105 gr.

Dans les expériences qui suivent, nous avons employé la balance de Richet, dont les détails techniques sont exposés dans ses *Travaux du laboratoire*, t. I, p. 256 (Paris, 1893). Nous avons ainsi déterminé les pertes de poids par kilogramme d'animal et par heure. Nous avons reproduit les courbes obtenues, comparativement à une courbe normale.

Courbe décrite par un animal non injecté. — N° 1.



Nous voyons que la ligne décrite par la perte de poids est sensiblement rectiligne.

Perte de poids par kilogramme et par heure après injection.

Expér. I. — Lapin ♀ rouge. Poids : 3.155 gr.

Injection dans le liquide céphalo-rachidien à 2 h. 37 de 0,31 c. c. de sérum d'anguille.

A 2 h. 40, course aussitôt interrompue par la paralysie des quatre membres. Agitation, efforts pour fuir. Exorbitisme, myosis.

A 2 h. 45, polypnée de courte durée. L'animal est placé sur la balance et a perdu 6 gr. par kilogramme en 1 h. 10. La courbe étant peu accentuée, nous ne l'avons pas reproduite.

Mort à 3 h. 55. La température n'a pu être prise.

Expér. II. — Lapin ♀ gris. Poids : 2.535 gr.

A 3 h. 23, injection au niveau du bulbe de 0,025 c. c. de sérum d'anguille.

3 h. 30. L'animal n'a pas eu de phase d'excitation ; il est inquiet.

3 h. 40. Myosis, salivation, polypnée intense.

5 h. 20. Température : 36°,8.

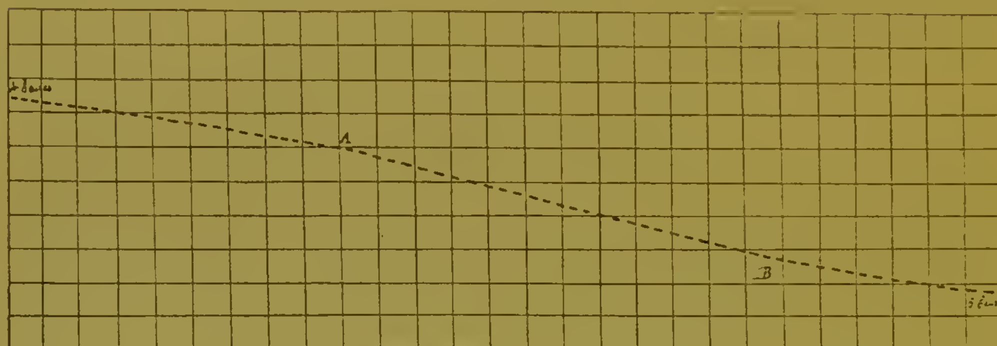
Perte de poids : 18 gr. 80 par kilogramme et par heure.

Nous voyons que la descente s'accentue nettement à partir du point A où l'animal a une crise polypnéique et se ralentit au point B.

Poids 24 heures après l'injection : 2.265 gr.

Perte : 270 gr. Température, 32°,0.

Courbe n° 2.



Expér. III. — Lapin ♂ gris, tache blanche sur le front. Poids : 2.425 gr.

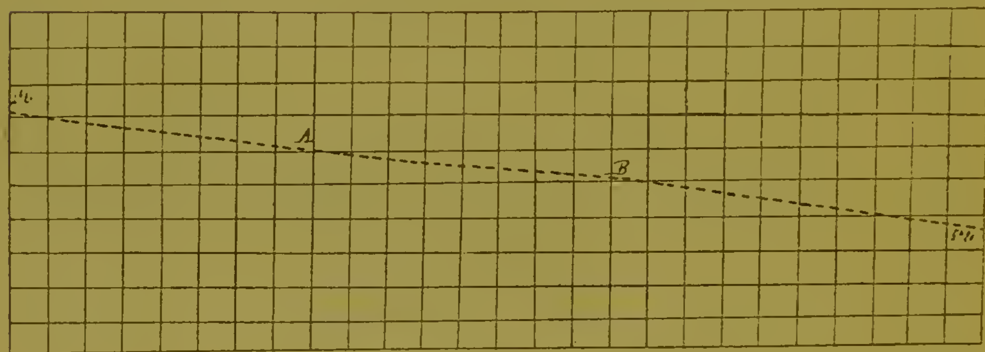
3 h. 49. Injection intra-rachidienne de 0,4 c. c. par kilogramme de sérum de torpille.

3 h. 52. Salivation, myosis. Pas d'excitation.

3 h. 55. Polypnée.

Perte de poids : 11 gr. par kilogramme et par heure.

Courbe n° 3.



Nous observons également une chute accentuée en A et plus rapide encore en B.

Température : 37°.

24 heures après l'injection, poids : 2.195 gr.

Perte totale : 230 gr.

Température : 33°,2.

Expér. IV. — Lapin ♂ gris. Poids : 2.605 gr.

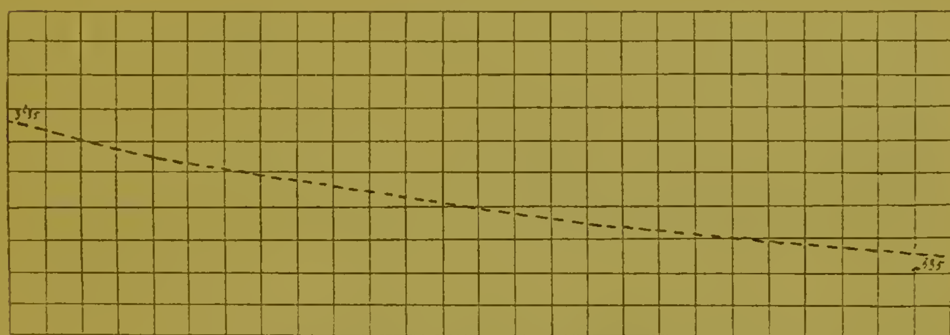
2 h. 39. Injection dans le liquide céphalo-rachidien de 0,15 c. c. par kilogramme de sérum de torpille ; elle n'est suivie d'aucun effet, la toxicité du sérum s'étant atténuée.

3 h. 7. Nouvelle injection de 0,2 c. c. par kilogramme.

3 h. 10. Pas d'excitation, polypnée.

Perte de poids à 4 h. 35, 14 gr. 50 par kilogramme.

Courbe n° 4.



Température : 36°,5.

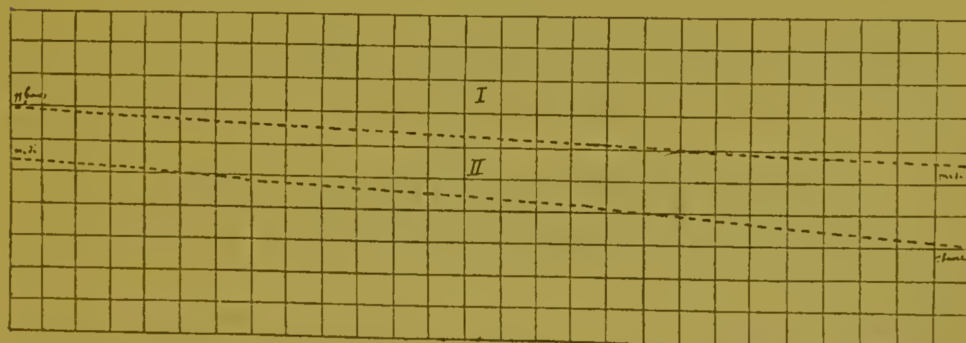
24 heures après l'injection, poids : 1.890 gr.

Perte totale : 775 gr.

Température : 28°,4.

Expér. V. — Lapin ♂ gris, tache blanche sur le front. Poids : 2.300 gr.

Courbe n° 5.



Injection intraveineuse de sérum d'anguille.

10 h. 25. Injection de 0,23 c. c. sans effet.

10 h. 41. Nouvelle injection de 0,47 c. c.

10 h. 45. Légère exsudation, myosis.

10 h. 50. Immobilité. Pas de polypnée.

12 h. 30. Polypnée peu intense.

1 h. 30. Perte de poids : 8 gr. 80 par kilogramme.

Les deux tracés reproduisent deux phases : la ligne I représente une période avec polypnée à peine sensible; la ligne II une période avec polypnée, mais peu intense.

Température : 38°,7.

Poids, 14 heures après l'injection : 2.295 gr.

Température : 39°,2.

Nous remarquons dans ces expériences la baisse de la température déjà signalée; ajoutons à cela que nous avons presque toujours observé que les animaux ayant survécu se rétablissaient rapidement et étaient revenus à leur poids primitif environ quatre jours après l'injection, deux jours même dans un cas; de là une nouvelle preuve en faveur de la théorie que nous soutenons : la perte de poids par exhalation d'eau. L'assimilation des hydrates de carbone ou des albuminoïdes pour réparer de semblables pertes nécessiterait, en effet, un temps beaucoup plus long. L'eau, au contraire, absorbée dans l'alimentation, est rapidement fixée par les tissus, et cela d'autant mieux que leur teneur en chlorures n'a pas varié. L'élimination de cet élément nous a, en effet, été démontrée constante par nos analyses d'urines, et nous savons que l'état d'hydratation de l'organisme est fonction de sa chloruration.

Ainsi, pour cette polypnée *toxique*, nous retrouvons les lois formulées par M. Richet pour la polypnée *thermique* :

1° L'animal se refroidit en respirant rapidement;

2° Cette polypnée entraîne la réfrigération par exhalation de vapeur d'eau.

Quant au mécanisme de cette polypnée toxique, il est plus que probable que celle-ci résulte d'une action directe de la substance toxique sur le bulbe, et non de l'acide carbonique, puisque ce gaz n'est pas produit en plus grande quantité.

Les sérums toxiques entraîneraient donc une perte de poids considérable, en agissant directement sur les centres bulbaires

présidant à la régulation de la température par évaporation pulmonaire.

Conclusions.

Les injections de sérum d'anguille et celles de sérum de torpille, en particulier dans le liquide céphalo-rachidien, déterminent chez les animaux des phénomènes nerveux intenses à prédominance bulbaire, et ceux-ci s'accompagnent de pertes de poids très marquées.

1° Ces pertes de poids apparaissent très peu de temps après l'injection et, diminuant progressivement, ne persistent pas au delà de quelques heures ou sont très atténuées ;

2° Ni l'élimination urinaire, ni le quotient respiratoire ne sont influencés;

3° La perte de poids est en relation étroite avec l'accélération des mouvements respiratoires et proportionnelle à l'augmentation de l'exhalation de vapeur d'eau.

BIBLIOGRAPHIE

(1) Regnault et Reiset. — Recherches chimiques sur la respiration des animaux. *Ann. de chimie et de physique*, t. LXIX, 1863.

(2) Cl. Bernard. — *Introduction à l'étude de la médecine expérimentale*, p. 110, 1865.

(3) L. Fredericq. — La respiration de l'oxygène dans la série animale. *Revue scientif.*, 1881.

(4) Gréhant et Quinquaud. — Recherches de physiologie pathologique sur la respiration. *Journal de l'anat. et de la physiol.*, Paris, 1882.

(5) H. Beaunis. — *Nouveaux Éléments de physiologie humaine*. Baillière, Paris, 1888.

(6) Léon Fredericq. — Sur la régulation de la température des animaux à sang chaud *Arch. de biologie*, 1888.

(7) A. Mosso. — Un venin dans le sang des Murénides. *Archives italiennes de biologie*, 1888, p. 141-169.

(8) U. Mosso. — Recherches sur la nature du venin qui se trouve dans le sang d'anguille. *Archives italiennes de biologie*, t. XII, p. 229-236, 1889.

(9) Ch. Richet. — *Travaux du laboratoire*, t. I, p. 256-278 et 431-469, Alcan, Paris, 1893.

(10) Phisalix. — Propriétés immunisantes du sérum d'anguille contre le venin de vipère. *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CXXIII, p. 1305, 1896.

(11) Wehrmann. — Recherches sur les propriétés toxiques et antitoxiques du sang et de la bile des anguilles et des vipères. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XI, p. 180, 1897.

(12) L. Camus et E. Gley. — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise. *Arch. internat. de pharmacodynamie*, t. V, p. 247-305, 1898.

(13) L. Camus et E. Gley. — De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action. *Acad. des Sciences*, 31 janvier 1898, p. 428.

(14) H. Kossel. — *Berl. klin. Wochenschrift*, 14 février 1898.

(15) Bouchard. — *Pathologie générale*, Masson, Paris, 1900; t. V, p. 1017-1065; t. III, 1re partie, p. 443-449.

(16) Yvon et Michel. — *Manuel d'analyses des urines et de séméiologie urinaire.* O. Doin, Paris, 1900.

(17) E. Gley. — Recherches sur le sang des Sélaciens. Action toxique du sérum de torpille. *Comptes rendus*, t. CXXXVIII, 13 juin 1904, p. 1547.

(18) Blarez. — *L'urine au point de vue chimique et médical.* Maloine, Paris, 1904.

(19) Vieillard. — *Séméiologie urinaire.* De Rudeval, Paris, 1905.

(20) J. Guiart et L. Grimbert. — *Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique.* F. R. de Rudeval, Paris, 1906.

(21) E. Gley. — *Physiologie.* Baillière, Paris, 1907.

(22) E. Gley. — De l'action des icthyotoxines sur le système nerveux des animaux immunisés contre ces substances. Contribution à l'étude de l'immunité. *Académie des Sciences*, 9 décembre 1907, p. 1210; — Action des sérums toxiques et de leurs antitoxines sur le système nerveux. *Ibid.*, 8 novembre 1909.

(23) E. Gley. — Action du sérum de torpille sur le système nerveux des animaux immunisés contre ce sérum. *Congrès de Clermont-Ferrand*, p. 609-612, 1908.

(24) E. Gley. — Recherches sur l'action antagoniste des sérums toxiques et de leurs antitoxines sur le système nerveux et sur le cœur isolé. Contribution à l'étude de l'immunité. *Congrès de l'Assoc. pour l'avancement des sc.*, Lille, 1909.

XX

RECHERCHES SUR L'IMMUNISATION CONTRE LES SÉRUMS TOXIQUES

Action réciproque du sérum d'anguille ou du sérum de torpille sur les animaux immunisés contre l'un ou l'autre de ces sérums. Action du sérum de congre sur les animaux immunisés contre le sérum d'anguille *.

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

La spécificité d'action des antitoxines bactériennes est établie par de nombreuses expériences; ces antitoxines protègent les animaux auxquels on les injecte uniquement contre l'action des toxines correspondantes.

Les sérums toxiques se comportent-ils comme les toxines bactériennes? et les antitoxines, qui se forment dans l'organisme des animaux auxquels on injecte tel ou tel de ces sérums, sont-elles spécifiques? La question nous a paru d'autant plus intéressante à étudier qu'elle peut être soumise à une investigation très précise au moyen de la recherche, *in vitro*, du pouvoir destructeur de l'un de ces sérums sur les hématies d'animaux immunisés contre quelque autre sérum et en suivant les variations de ce pouvoir hématolytique.

Une première série d'expériences a été faite avec le sérum d'anguille (*Anguilla vulgaris*) et avec celui de torpille (*Torpedo marmorata*).

* *Journal de physiol. et de pathol. génér.*, 15 septembre 1910, t. XII, p. 781-795.

Nous avons démontré en 1898[1] que le sérum du sang de l'anguille, dont l'action toxique était connue depuis les recherches de A. Mosso (de Turin) dix ans auparavant, contient une substance qui détruit, même à très faible dose (à 1/10.000^{e}, à 1/15.000^{e} et même à 1/20.000^{e}), les globules rouges du sang des Mammifères, du lapin en particulier. Nous avons démontré en même temps que l'immunisation de ces animaux contre le sérum d'anguille, au moyen de doses faibles et répétées, puis peu à peu croissantes, de ce sérum, fait apparaître dans leur sang une antitoxine ; ce fut la première anticytotoxine connue ; celle-ci se trouve dans le sérum et avec ce dernier on peut protéger des animaux neufs contre la toxine du sang de l'anguille et l'on peut, *in vitro*, protéger leurs globules rouges contre l'action destructive de cette toxine. D'autre part, l'un de nous[2] a découvert en 1904 l'action toxique du sérum de torpille, poisson du groupe des Sélaciens, l'anguille faisant partie du groupe des Téléostéens. Dans ses grandes lignes l'action du sérum de torpille ressemble à celle du sérum d'anguille, quoique moins intense. Au cours de ces recherches, il a été établi que l'on peut immuniser des animaux contre ce sérum aussi bien que contre celui de l'anguille.

Ces faits étant rappelés, voici ce que nous nous sommes proposé de voir. Des animaux étant immunisés contre le sérum d'anguille résisteront-ils à une dose mortelle de sérum de torpille et, *vice versa*, des animaux immunisés contre ce dernier résisteront-ils à une dose sûrement mortelle de sérum d'anguille? Et, *in vitro*, les hématies des premiers résisteront-elles et dans quelle mesure à l'action hématolytique du sérum de

1. L. Camus et E. Gley. De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale. Immunisation contre cette action (*C. R. Acad. des Sc.*, 31 janvier 1898, t. CXXVI, p. 428); — Sur le mécanisme de l'immunisation contre l'action globulicide du sérum d'anguille (*Ibid.*, 8 août 1898, t. CXXVII, p. 330); — Expériences concernant l'état réfractaire au sérum d'anguille. Immunité cytologique (*Ibid.*, 24 juillet 1899, t. CXXIX, p. 231); — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise (*Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305).

2. E. Gley. Recherches sur le sang des sélaciens. Action toxique du sérum de torpille (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, 13 juin 1904, t. CXXXVIII, p. 1547).

torpille et, *vice versa*, les hématies des seconds manifesteront-elles quelque résistance à l'action hématolytique si puissante du sérum d'anguille?

I — Action du sérum de torpille sur des animaux immunisés contre le sérum d'anguille.

Sept lapins ont été immunisés contre le sérum d'anguille. Voici, résumées dans le tableau suivant, les observations de ces animaux :

Ainsi, de ces sept lapins, quatre sont morts, les nos 1, 4, 6 et 7, à la suite de l'injection de 2,5 c. c., 4 c. c. ou 3 c. c. de sérum de torpille par kilog., et trois ont survécu, les nos 3, 2 et 5, après avoir reçu 2,5 c. c., 2 c. c. et 5 c. c. de ce même sérum par kilog. Ces doses sont presque toutes supérieures à la dose sûrement mortelle qui est de 2 c. c. par kilog.[1]. Celle-ci, il est vrai, ne s'entend que du sérum frais. Par le vieillissement en effet, ce sérum, même conservé à la glacière, perd progressivement de sa toxicité[2]; il n'est pas rare que cette diminution de toxicité se constate au bout de trois ou quatre semaines et même plus tôt. Aussi importe-t-il, quand on veut éprouver son action sur des animaux immunisés, de l'éprouver en même temps sur des animaux neufs (témoins), contre-épreuve d'autant plus nécessaire d'ailleurs que les torpilles ne fournissent pas toujours un sérum également toxique.

Reprenons donc nos expériences dans le détail. Sur nos sept lapins, quatre sont morts. L'un d'eux, il est vrai, le n° 1, ne possédait vraisemblablement pas une forte immunité, pour la raison qu'il n'avait reçu, avant que sa résistance fût éprouvée, que deux injections de sérum d'anguille. Mais le n° 6, qui devait être assez bien immunisé, et les nos 4 et 7, qui l'étaient sans doute fortement, sont morts après une injection de sérum de torpille, de la même façon et aussi rapidement que des animaux neufs. La dose du même sérum, auquel ils ont succombé, a été injectée en effet à des animaux témoins : le témoin du n° 4 est mort en 15 minutes ; les deux témoins du n° 6 ont survécu après avoir présenté des accidents respiratoires (polypnée, dyspnée) et de la parésie; le témoin du n° 7 est mort en 13 ou 14 minutes.

Voyons maintenant comment se sont comportés les témoins des

1. Voy. E. Gley, *loc. cit.*

2. Voy. E. Gley. De l'action des ichtyotoxines sur le système nerveux des animaux immunisés contre ces substances. Contribution à l'étude de l'immunité (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, 9 décembre 1907, t. CXLV, p. 1210).

ANIMAUX	DATES des injections	QUANTITÉS de sérum injectées par kilogr. (injections intra-veineuses)	POIDS des animaux	RÉSULTATS
		centim. cubes	grammes	
N° 1. ♂.	24 octobre 1905.	0,02 SA[1]	1,900	Myosis, salivation, etc. Très malade encore le lendemain.
	28 —	0,01 —	1,760	Aucun accident.
	30 —	2,5 ST[2]	1,840	Accidents immédiats graves. Mort après quelques heures.
N° 2. ♂.	30 octobre 1905.	0,005 SA	2,070	
	1er novemb. 1905.	0,01 —	1,830	
	3 —	0,02 —	1,880	Salivation.
	6 —	0,04 —	1,825	
	8 —	0,5 —	1,930	Polypnée, pas de myosis.
	9 —	2,5 ST	2,010	Accidents graves durant une heure. Survie.
	10 —		1,900	
N° 3. ♀.	30 octobre 1905.	0,005 SA	2,240	
	1er novembre 1905.	0,01 —	2,040	
	3 —	0,02 —	2,120	Dyspnée.
	6 —	0,04 —	1,860	
	8 —	0,5 —	2,040	Aucun accident.
	9 —	2 ST	2,220	Accidents graves durant une heure. Survie.
	10 —		2,060	
N° 4. ♂.	12 octobre 1906.	0,015 SA	1,810	
	17 —	0,025 —	1,750	
	27 —	0,05 —	1,850	
	6 novemb. 1906.	0,075 —	1,800	
	12 —	0,2 —	1,880	
	23 —	0,2 —	2,010	
	27 —	0,3 —	2,010	
	30 —	4 ST	2,140	Mort en 8 minutes.
N° 5. ♂.	27 octobre 1906.	0,025 SA	2,100	
	6 novemb. 1906.	0,1 —	2,150	
	12 —	0,2 —	2,090	
	16 —	5 ST	1,960	Accidents graves durant environ 2 heures. Survie.
	17 —		1,950	
N° 6. ♀.	5 novemb. 1906.	0,05 SA	2,200	Accidents tr. graves : myosis, salivation, agitation convulsive, impulsions.
	8 —	0,1 —	2,220	
	12 —	0,2 —	2,140	
	16 —	4 ST	2,300	Mort en 2 heures 3 min.
N° 7. ♀.	27 novemb. 1906.	0,05 SA	2,050	
	3 décemb. 1906.	0,1 —	2,070	
	16 —	0,1 —	2,150	
	26 —	0,2 —	2,320	
	5 janvier 1907.	0,4 —	2,545	
	17 —	3 ST	2,820	Mort en 9 minutes.

1. Les lettres SA désignent le sérum d'Anguille.
2. Les lettres ST désignent le sérum de Torpille.

trois lapins survivants, 2, 3 et 5. Pour les n°s 2 et 3, il n'y eut qu'un seul témoin qui succomba en 2 h. 15' à la suite de l'injection de 2 c. c. de sérum de torpille par kilog. Par contre, la toxicité du sérum qui servit pour le n° 5 fut éprouvée sur deux témoins, à la dose de 3 et de 4 c. c. par kilog., et ces deux animaux présentèrent quelques accidents respiratoires, mais survécurent aussi. D'ailleurs, c'est encore le même sérum qui fut injecté au n° 6 et on a vu que, à l'inverse des animaux précédents, celui-ci n'y résista point.

Rappelons à ce propos que si, en général, un sérum d'une intensité donnée a des effets identiques aux mêmes doses sur les animaux d'une même espèce, cependant on peut rencontrer parfois des animaux qui y sont plus sensibles ou qui, au contraire, y résistent mieux. Ces variations d'action, dans des limites d'ailleurs assez peu étendues, s'observent aussi, on le sait, avec les toxines microbiennes et avec les venins.

Nous n'avons pas éprouvé la résistance de tous ces animaux à l'action hématolytique du sérum d'anguille et comparativement du sérum de torpille. Nous n'avons fait cette épreuve[1] que sur les n°s 1, 2 et 3. En voici les résultats :

Lapin n° 1. — 1° *Action hématolytique du sérum d'anguille sur le lapin immunisé n° 1* :

Tube n° 1	avec sérum d'anguille	à	1/50.	Hématolyse après 16 heures[2]. Il reste au fond un dépôt globulaire.
— n° 2	—	—	1/100.	
— n° 3	—	—	1/200.	
— n° 4	—	—	1/400.	
— n° 5	—	—	1/800.	

1. La résistance globulaire de ces animaux a été éprouvée de la façon et avec les précautions que nous avons décrites dans notre mémoire de 1898 des *Arch. intern. de pharmacodynamie*, au moyen de la méthode bien connue de Hamburger (*Arch. f. Physiol.*, 1886, S. 476 et *Z. f. Biol.*, t. XXVI, S. 414) et en utilisant le procédé de A. Mosso (*Atti del. R. Accad. di Torino*, mars 1887). — G. Viola (*Gazz. degli Ospedali*, 1894, n° 12). — Les quantités employées de sérum hématolytique étaient ajoutées à 1 c. c. d'eau salée à 0,66 p. 100, c'est-à-dire à une solution de chlorure de sodium nettement hypertonique pour les hématies du lapin. Dans chacun des tubes contenant cette solution, on introduisait une goutte du sang de l'animal dont on voulait éprouver la résistance globulaire ; ce sang était pris directement dans le cœur, suivant la technique utilisée depuis longtemps dans notre laboratoire.

2. La coloration rouge de tous les tubes de cette série était beaucoup moins marquée que celle de la série suivante.

Action hématolytique du même sérum d'anguille sur un lapin témoin :

Tube	nº 1	avec sérum d'anguille	à	1/50.	Hématolyse totale après 16 heures.
—	nº 2	—	—	1/100.	
—	nº 3	—	—	1/200.	
—	nº 4	—	—	1/400.	Hématolyse après 16 heures. Très petit dépôt globulaire.
—	nº 5	—	—	1/800.	

2º *Action hématolytique du sérum de torpille*[1] *sur le lapin immunisé nº* 1 :

Tube	nº 1	avec sérum de torpille	à	1/50.	Hématolyse après 16 heures. Dépôt abondant de globules.
—	nº 2	—	—	1/100.	
—	nº 3	—	—	1/200.	
—	nº 4	—	—	1/400.	Hématolyse très faible. —
—	nº 5	—	—	1/800.	— douteuse. —

Action hématolytique du même sérum de torpille sur un lapin témoin (le même que ci-dessus) :

Tube	nº 1	avec sérum d'anguille	à	1/50.	Hématolyse après 16 heures. Dépôt abondant de globules.
—	nº 2	—	—	1/100.	
—	nº 3	—	—	1/200.	
—	nº 4	—	—	1/400.	Hématolyse trés faible. —
—	nº 5	—	—	1/800.	— douteuse. —

Lapin nº 2. — 1º *Action hématolytique du sérum d'anguille sur le lapin immunisé nº* 2 :

Tube	nº 1	avec sérum d'anguille	à	1/50.	Hématolyse nette, mais avec dépôt de globules.
—	nº 2	—	—	1/100.	
—	nº 3	—	—	1/200.	
—	nº 4	—	—	1/400.	Hématolyse extrêmement faible.
—	nº 5	—	—	1/800.	Pas trace d'hémoglobine dissoute.
—	nº 6	—	—	1/1000.	

Action hématolytique du même sérum d'anguille sur un lapin témoin :

Tube	nº 1	avec sérum d'anguille	à	1/50.	Hématolyse totale après 16 heures.
—	nº 2	—	—	1/100.	
—	nº 3	—	—	1/200.	
—	nº 4	—	—	1/400.	— très forte.
—	nº 5	—	—	1/800.	
—	nº 6	—	—	1/1000.	
—	nº 7	—	—	1/2000.	— très nette.
—	nº 8	—	—	1/4000.	
—	nº 9	—	—	1/8000.	— nette.
—	nº 10	—	—	1/10000.	

1. Le sérum de torpille est nettement hématolytique, même dilué à 1/1000 (voy. E. Gley, *loc. cit.*).

2° *Action hématolytique du sérum de torpille sur le lapin immunisé n° 2 :*

Tube n° 1	avec sérum de torpille	à 1/50.	Hématolyse très nette après 16 h.	
— n° 2	—	— 1/100.		
— n° 3	—	— 1/200.	—	faible.
— n° 4	—	— 1/400.	—	très faible.
— n° 5	—	— 1/800.	—	douteuse.

Action hématolytique du même sérum de torpille sur un lapin témoin. — Avec les mêmes dilutions, les résultats ont été exactement les mêmes que les précédents.

Lapin n° 3. — 1° *Action hématolytique du sérum d'anguille sur le lapin immunisé n° 3 :*

Tube n° 1	avec sérum d'anguille	à 1/50.	Hématolyse totale après 16 heures.
— n° 2	—	— 1/100.	Forte hématolyse, mais avec dépôt globulaire.
— n° 3	—	— 1/200.	
— n° 4	—	— 1/400.	Hématolyse faible.
— n° 5	—	— 1/800.	— douteuse.
— n° 6	—	— 1/1000.	Pas d'hématolyse du tout.

Action hématolytique du même sérum d'anguille sur un lapin témoin. — Même témoin que pour le lapin n° 2; voy. ci-dessus.

2° *Action hématolytique du sérum de torpille sur le lapin immunisé n° 3 :*

Tube n° 1	avec sérum de torpille	à 1/50.	Hématolyse très nette après 16 h.	
— n° 2	—	— 1/100.		
— n° 3	—	— 1/200.	—	légère.
— n° 4	—	— 1/400.	—	très faible.
— n° 5	—	— 1/800.	—	douteuse.

Action hématolytique du sérum de torpille sur un lapin témoin. — L'action a été la même, aux mêmes dilutions, que sur l'animal précédent.

On voit que ces trois animaux, n°s 1, 2 et 3, étaient tous immunisés contre l'action globulicide du sérum d'anguille, le n° 1 faiblement, les n°s 2 et 3 fortement; néanmoins, leurs hématies n'ont pas mieux résisté que celles d'animaux témoins à l'action globulicide du sérum de torpille; et à ce point de vue il n'y a eu aucune différence entre nos trois immunisés.

II. — Action du sérum d'anguille sur des animaux immunisés contre le sérum de torpille.

Onze lapins ont été immunisés contre le sérum de torpille. Nous résumons dans le tableau ci-après les observations de ces animaux.

ANIMAUX	DATES des injections	QUANTITÉS de sérum injectées par kilogr. (injections intra-veineuses)	POIDS des animaux	RÉSULTATS
		centim. cubes	grammes	
N° 1 ♀.	24 octobre 1905.	0,5 ST	1.630	
	26 — .	0,5 —	1.760	
	28 — .	0,5 —	1.750	
	30 — .	0,5 —	1.680	
	1er novembre .	2 —	1.710	Un peu de dyspnée.
	3 — .	0,03 SA	1.780	Accidents très graves. Survie.
	6 — .		1.860	
N° 2 ♂.	24 octobre 1905.	0,5 ST	1.780	
	26 — .	1 —	1.790	
	28 — .	1 —	1.810	
	30 — .	1 —	1.900	
	1er novembre .	2 —	1.950	
	3 — .	2 —	2.020	
	4 — .	0,04 SA	2.020	Accidents très graves. Survie.
	6 — .		1.980	
N° 3 ♀.	30 octobre 1905.	0,5 ST	2.020	
	1er novembre .	0,5 —	1.740	
	3 — .	1 —	1.800	
	6 — .	2 —	2.030	Polypnée durant 20 min.
	8 — .	0,5 SA	2.040	Mort en 1 minute 30 sec.
N° 4 ♂.	18 octobre 1906.	2 ST	1.820	Accidents durant 1 heure.
	29 — .	4 —	2.120	Polypnée, parésie.
	1er novembre .	4 —	2.280	
	5 — .	0,75 SA	2.340	Myosis; sécrétion salivaire et lacrymale, miction, un peu d'agitation. Survie.
	6 — .		1.970	
	8 — .		2.070	
N° 5 ♂.	16 novembre 1906.	4 ST	1.930	
	18 — .	4 —	1.740	
	23 — .	4 —	1.880	
	27 — .	4 —	1.830	
	1er décembre .	0,2 SA	1.790	Dyspnée, myosis. Survie.

ANIMAUX	DATES des injections	QUANTITÉS de sérum injectées par kilogr. (injections intra-veineuses)	POIDS des animaux	RÉSULTATS
		centim. cubes	grammes	
N° 6 ♀.	16 novembre 1906.	2,5 ST	1.870	
	18 — .	3 —	1.900	
	23 — .	3 —	1.910	
	27 — .	3 —	1.900	
	3 décembre .	1,2 —	2.150	
	5 — .	4 —	2.260	
	7 — .	0,2 SA	2.260	MORT en 5 heures environ.
N° 7 ♀.	23 novembre 1906.	2 ST	2.190	
	27 — .	3 —	2.070	
	3 décembre .	1,2 —	2.170	
	5 — .	4 —	2.200	
	7 — .	0,3 SA	2.270	MORT en 4 heures environ.
N° 8 ♂.	31 décembre 1907.	0,5 ST	2.050	
	6 janvier 1908.	0,9 —	2.120	
	13 — .	0,8 —	2.520	
	16 — .	0,8 —	2.420	
	24 — .	0,7 —	2.800	
	28 — .	1,35 —	2.720	
	31 — .	4 —	2.850	
	2 février .	0,2 SA	2.780	MORT en 2 minutes.
N° 9 ♀.	31 décembre 1907.	0,45 ST	2.210	
	6 janvier 1908.	0,9 —	2.170	
	13 — .	0,9 —	2.200	
	16 — .	0,9 —	2.290	
	18 — .	4 —	2.370	
	24 — .	0,8 —	2.400	
	28 — .	1,5 —	2.580	
	31 — .	0,2 SA	2.560	MORT en 2 heures 18 min.
N° 10 ♂.	9 janvier 1908.	0,4 ST	2.540	
	13 — .	0,75 —	2.520	
	16 — .	0,7 —	2.580	
	24 — .	0,7 —	2.780	
	28 — .	1,4 —	2.740	
	31 — .	0,2 SA	2.710	MORT en 4 minutes.
N° 11 ♂.	9 janvier 1908.	0,4 ST	2.630	
	13 — .	0,6 —	2.770	
	16 — .	0,7 —	2.680	
	24 — .	0,65 —	2.920	
	28 — .	1,7 —	2.950	
	31 — .	0,2 SA	2.970	MORT en 4 minutes.

Ainsi, de ces onze lapins, sept sont morts, les n°s 3, 6, 7, 8, 9, 10 et 11, et quatre ont survécu, les n°s 1, 2, 4 et 5.

Tous ces animaux semblent avoir été semblablement ou à peu près semblablement immunisés contre le sérum de torpille. Presque tous en effet ont, à la fin de l'immunisation, reçu la dose mortelle ou le double de cette dose sans éprouver d'accidents. Au contraire, des

lapins témoins (nous avons montré plus haut la nécessité dans ces expériences de vérifier sur des animaux neufs la toxicité du sérum employé) ont succombé à la suite d'une injection du même sérum; ainsi trois animaux, témoins pour les nos 1, 2 et 3, sont morts en 17 min., 35 min. et 2 h. 15, après avoir reçu par la veine marginale de l'oreille 2 c. c. par kilog. de sérum de torpille ; pour le n° 4, il y eut deux témoins qui, alors que cet animal avait résisté à une dose de 4 c. c. par kilog., moururent tous deux en 14 min., après avoir reçu l'un 2,5 c. c. et l'autre 3 c. c. par kilog. ; pour le n° 5, il n'y eut qu'un témoin qui succomba 15 min. après une injection de 4 c. c. par kilog.; pour les nos 6 et 7, un seul témoin qui succomba aux accidents habituels à la suite de l'injection de 4 c. c. par kilog.; enfin un témoin pour les quatre derniers immunisés, 8, 9, 10 et 11, mourut en quelques heures sous l'influence d'une dose de 2 c. c. par kilog.

Il n'est donc pas douteux que les lapins en question étaient solidement immunisés contre le poison du sang de torpille Comment se comportèrent-ils sous l'influence du sérum d'anguille?

Le tableau que nous avons donné ci-dessus montre que quatre seulement, les nos 1, 2, 3, 4 et 5, ont résisté à ce sérum. S'agissait-il là d'une résistance réelle ou apparente seulement? Pour répondre à cette question, il faut savoir quelle a été l'action sur des animaux neufs du sérum d'anguille employé. Celui qui a servi pour les nos 1, 2 et 3 était extrêmement toxique. Nous avons antérieurement établi[1] que la dose mortelle pour le lapin est en général de 0,2 c. c. par kilogramme. Le sérum utilisé ici était environ dix fois plus toxique, comme le montre le tableau suivant, dans lequel nous résumons une série d'expériences faites sur des animaux neufs pour éprouver justement cette toxicité.

On voit que, du 24 octobre au 3 novembre, ce sérum s'est montré très toxique (toxicité dix fois plus grande que la toxicité habituelle, 0,02 c. c. et même, sur un animal, 0,01 c. c. au lieu de 0,2), puis à partir du 3 novembre la toxicité diminue[2]. Or, c'est le 3 novembre et le 4 que les nos 1 et 2 reçoivent, l'un 0,03 c. c. et l'autre 0,04 c. c. de ce même sérum, c'est-à-dire des doses qui ont cessé d'être sûrement

1. L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*
2. C. Maglieri (*Annali d'igiene sperimentale*, N. S., t. VII, p. 191-214, 1897) a déjà soutenu que la toxicité du sérum d'anguille s'atténue à partir du 8e jour qui suit son prélèvement, même s'il a été recueilli aseptiquement et s'il est conservé dans un lieu frais et obscur. Nos expériences antérieures (*Arch. de

mortelles. Au contraire, le n° 3, qui reçoit le 8 novembre une dose sûrement mortelle, n'y résiste point, quelle que soit la valeur de son immunisation contre le sérum de torpille. Restent les deux autres survivants, les nos 4 et 5. Le n° 4 semble n'avoir reçu aussi, comme les nos 1 et 2, qu'une dose limite, car un animal témoin, auquel on avait injecté cette même quantité de 0,075 c. c. par kilogramme du même sérum, a pareillement survécu, ayant présenté des accidents analogues, d'une gravité médiocre. Quant au n° 5, nous pouvons le comparer aux deux témoins qui ont reçu le même jour, l'un 0,1 c. c. par kilogramme

Toxicité d'un sérum recueilli le 23 octobre 1905 et provenant de trois Anguilles (de 430, 440 et 667 grammes) (16,1 c. c. de sérum).

LAPINS	POIDS des animaux	DATES des injections	QUANTITÉS de sérum injectés par kilogr. (injection intra-veineuse)	RÉSULTATS
	grammes		centim. cubes	
N° 1 ♂	1.690	24 octobre 1905. .	0,02	Mort en quelques heures.
N° 2 ♀	1.780	— . .	—	—
N° 3 ♂	1.900	— . .	—	Accidents qui ont duré près de 24 heures. Survie.
N° 4 ♂	2.290	28 — . .	0,01	Mort en 6 minutes.
N° 5 ♀	1.895	3 novembre . .	0,02	Survie ap. quelques accidents.
N° 6 ♂	1.880	— . .	0,03	Mort en 4 minutes.
N° 7 ♂	2.540	4 — . .	0,04	Survie ap. quelques accidents.
N° 8 ♂	2.420	— . .	0,03	Survie ap. quelques accidents.
N° 9 ♂	1.870	— . .	—	Mort en 18 minutes.
N° 10 ♀	1.720	8 — . .	0,05	Accidents peu graves. Survie.
N° 11 ♂	1.510	— . .	0,1	Mort en plusieurs heures.
N° 12 ♀	1.150	— . .	0,2	—
N° 13 ♂	1.080	— . .	0,3	—
N° 14 ♀	1.110	— . .	0,5	Mort en 3 minutes.

et l'autre 0,2 c. c. et qui sont morts tous deux, le premier 48 heures après l'injection et le second 25 heures après ; le n° 5 a donc résisté à une dose de sérum d'anguille mortelle pour d'autres animaux. On sait fort bien que l'on rencontre de temps en temps des animaux qui présentent naturellement quelque résistance à une toxine, à un venin ou même à des poisons chimiquement définis. Il se peut que le lapin dont il s'agit ait possédé une résistance de ce genre, étant donné qu'aucun

pharmacodynamie, 1898) ne nous avaient pas permis de confirmer ce fait. Comme on vient de le voir par le tableau ci-dessus, nous avons eu l'occasion

autre de nos immunisés contre le sérum de torpille ne semble avoir acquis par ce fait une immunité contre le sérum d'anguille.

Il nous reste à voir si cette immunisation contre le sérum de torpille s'est révélée par la résistance à l'action hématolytique dudit sérum, et en même temps a amené quelque résistance à l'action hématolytique du sérum d'anguille. Nous avons fait cette recherche comparative sur les lapins n[os] 1, 2, 8, 9, 10 et 11. En voici les résultats :

Lapin n° 1. — 1° *Action hématolytique du sérum de torpille sur le lapin immunisé n° 1* :

Tube n° 1	avec sérum de torpille à	1/50.	Pas d'hématolyse après 24 heures.
— n° 2	— —	1/100.	
— n° 3	— —	1/200.	
— n° 4	— —	1/400.	
— n° 5	— —	1/800.	

---

de l'observer. Nous pourrions citer un autre exemple de cette atténuation :

Toxicité d'un sérum recueilli le 10 octobre 1906 et provenant de deux Anguilles (450 grammes et 1.310 grammes).

LAPINS	POIDS des animaux	DATES des injections	QUANTITÉS de sérum injectées par kilogr. (injection intra-veineuse)	RÉSULTATS
	grammes		centim. cubes	
N° 1 ♂	2,650	11 octobre 1906	0,018	Mort en une minute.
N° 2 ♀	2,500	—	0,02	Mort en quelques heures.
N° 3 ♀	2,530	—	0,02	— —
N° 4 ♂	1,910	12 —	0,013	— —
N° 5 ♀	2,200	5 novembre 1906	0,05	Survie après accidents très graves.
N° 6 ♀	2,870	—	0,05	Survie après accidents très graves.
	2,050	6 —		
	2,520	8 —	0,1	Mort en quelques heures.
N° 7 ♂	2,750	5 —	0,1	Mort en 6 minutes.
N° 8 ♀	1,970	5 —	0,075	Survie après quelques accidents.
N° 9 ♀	2,130	23 —	0,1	Mort après 10 ou 12 heures.
N° 10 ♂	1,950	24 —	0,1	— —
N° 11 ♀	1,660	—	0,07	— —
N° 12 ♀	1,515	27 —	0,05	— en 20 minutes.
N° 13 ♂	2,050	30 —	0,01	— deux jours après.
N° 14 ♀	1,950	1er décembre 1906	0,02	— —

Action hématolytique du même sérum de torpille sur un lapin témoin :

Tube	n° 1	avec sérum de torpille	à	1/50.	Hématolyse après 16 heures. Dépôt globulaire dans tous les tubes.
—	n° 2	—	—	1/100.	
—	n° 3	—	—	1/200.	
—	n° 4	—	—	1/400.	
—	n° 5	—	—	1/800.	Hématolyse faible après 16 heures.

2° *Action hématolytique du sérum d'anguille sur le lapin immunisé n° 1 :*

Tube	n° 1	avec sérum d'anguille	à	1/100.	Hématolyse totale après 16 heures.
—	n° 2	—	—	1/200.	
—	n° 3	—	—	1/400.	
—	n° 4	—	—	1/800.	
—	n° 5	—	—	1/1000.	
—	n° 6	—	—	1/2000.	Hématolyse presque totale après 16 heures.
—	n° 7	—	—	1/4000.	
—	n° 8	—	—	1/8000.	

Action hématolytique du même sérum d'anguille sur un lapin témoin (le même que ci-dessus).

Tube	n° 1	avec sérum d'anguille	à	1/100.	Hématolyse totale après 16 heures.
—	n° 2	—	—	1/200.	
—	n° 3	—	—	1/400.	
—	n° 4	—	—	1/800.	
—	n° 5	—	—	1/1900.	
—	n° 6	—	—	1/2000.	
—	n° 7	—	—	1/4000.	
—	n° 8	—	—	1/8000.	

Lapin n° 2. — 1° *Action hématolytique du sérum de torpille sur le lapin immunisé n°* 2 :

Tube	n° 1	avec sérum de torpille	à	1/50.	Pas d'hématolyse.
—	n° 2	—	—	1/100.	
—	n° 3	—	—	1/200.	
—	n° 4	—	—	1/400.	
—	n° 5	—	—	1/800.	

L'animal témoin est le même que celui qui a servi pour le lapin immunisé n° 1.

2° *Action hématolytique du sérum d'anguille sur le lapin immunisé n° 2* :

Tube n° 1	avec sérum	d'anguille à	1/100.	Hématolyse très intense, mais non totale, après 16 heures.
— n° 2	—	—	1/200.	
— n° 3	—	—	1/400.	
— n° 4	—	—	1/800.	
— n° 5	—	—	1/1000.	
— n° 6	—	—	1/2000.	
— n° 7	—	—	1/4000.	
— n° 8	—	—	1/8000.	

L'animal témoin est le même que celui qui a servi pour le lapin immunisé n° 1.

Lapins nos 8, 9, 10 *et* 11. — Il nous a paru inutile d'essayer la résistance des hématies de ces animaux à l'action destructive du sérum de torpille, leur résistance à l'action toxique étant évidente. Nous nous sommes contentés de chercher si leurs hématies présentaient quelque résistance au sérum d'anguille.

Action hématolytique du sérum d'anguille sur les lapins immunisés nos 8, 9, 10 *et* 11 :

Tube n° 1	avec sérum	d'anguille à	1/100.	Hématolyse totale pour le n° 8, presque totale pour 9, 10 et 11.
— n° 2	—	—	1/250.	Hématolyse totale pour le n° 8, presque totale pour 9, 10 et 11.
— n° 3	—	—	1/500.	Hématolyse totale pour le n° 8, petit dépôt globulaire pour les nos 9, 10 et 11.
— n° 4	—	—	1/1000.	Forte hématolyse dans tous les tubes, mais avec dépôt globulaire, celui-ci étant moindre cependant pour le sang du lapin n° 8.
— n° 5	—	—	1/5000.	
— n° 6	—	—	1/10000.	Forte hématolyse pour le n° 8, faible pour les nos 9, 10 et 11.

Action hématolytique du même sérum d'anguille sur un lapin témoin :

Tube n° 1	avec sérum	d'anguille à	1/100.	Hématolyse totale.
— n° 2	—	—	1/250.	
— n° 3	—	—	1/500.	
— n° 4	—	—	1/1000.	
— n° 5	—	—	1/5000.	
— n° 6	—	—	1/10000.	Hématolyse presque totale, il reste quelques globules.

Ces expériences montrent que, contrairement à ce qui se passe

pour l'action du sérum de torpille sur les hématies des animaux immunisés contre le sérum d'anguille, chez les animaux immunisés contre le sérum de torpille les globules paraissent avoir acquis quelque résistance au sérum d'anguille. Cette résistance est bien faible, à la vérité, à tel point que l'on peut se demander si elle n'est pas l'effet simplement d'une réaction liée aux processus généraux de l'immunisation. En d'autres termes, l'antitoxine qui se produit au cours de l'immunisation contre le sérum de torpille, l'antitoxine spécifique, n'agirait pas en réalité sur la toxine du sérum d'anguille, mais la légère résistance constatée des hématies des animaux serait due seulement aux réactions générales que détermine dans tout organisme la formation d'une antitoxine quelconque. Ces réactions s'accompagneraient-elles des phénomènes susceptibles d'augmenter plus ou moins la résistance globulaire? La chose est possible.

III. — Action du sérum de congre sur des animaux immunisés contre le sérum d'anguille.

Dans une autre série d'expériences, nous avons eu recours au sérum de congre (*Conger vulgaris*).

Ce poisson fait partie du même groupe que l'anguille, des Téléostéens physostomes apodes, groupe des Murénides. Son sérum, encore que très toxique, l'est cependant moins que celui de l'anguille[1].

Plusieurs lapins ont été immunisés contre ce dernier, pour être ensuite soumis à l'action du sérum de congre.

Lapin n° 1 ♀. Cet animal a reçu du 15 avril au 11 juillet 1910 treize injections intra-veineuses de sérum d'anguille, à dose progressivement croissante, depuis 1/3 de goutte jusqu'à 1 c. c. Son poids, qui était de 3 kilog. 540, a baissé sous l'influence des premières injections (réaction défavorable), puis a augmenté jusqu'à redevenir à peu près

1. Voy. A. Mosso : Un venin dans le sang des Murénides (*Arch. italiennes de Biol.*, 1888, t. X, p. 141-169); — A. Pettit : Altérations rénales consécutives à l'injection de sérum d'anguille et de congre (*Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1901, t. VIII, p. 409-428).

le même qu'au début, et enfin a recommencé à baisser, si bien que le 11 juillet il n'était plus que de 2 kil. 900.

Lapin n° 2 ♂ P. = 2,750 gr. Il reçoit le 15 avril 1910 1/3 de goutte de sérum ; le 20 avril, il succombe à la suite d'une injection de 2/3 de goutte.

Lapin n° 2 *bis*, reçoit du 23 avril au 11 juillet 1910 dix injections, depuis 1/3 de goutte jusqu'à 1,5 c. c. Son poids, qui était de 2.350 gr., s'est progressivement élevé en ce laps de temps à 4.180. Il s'agit donc ici d'un animal qui a très bien supporté l'immunisation.

Lapin n° 3 ♀, pesant 3.330 gr., reçoit du 15 avril au 24 juin 1910 dix injections, depuis 1/3 de goutte jusqu'à 1 c. c. Le 24, on lui injecte 1 c. c. d'un sérum dans lequel s'était produit une précipitation floconneuse ; il meurt d'embolie.

Lapin n° 3 *bis* ♀, du poids de 3 kil. 270. Injection de 0,1 c. c. d'un sérum frais. Myosis, dyspnée, abattement, hémoglobinurie. Le lendemain matin, attaque convulsive, exophtalmie, hémorragie nasale, mort.

Lapin n° 4 ♀, de 2.250 gr., reçoit dix injections du 23 avril au 11 juillet 1910, depuis 1/3 de goutte jusqu'à 1,5 c. c. Son poids, le 11 juillet, est de 3.945 gr. L'animal a donc très bien résisté à l'immunisation.

Lapin n° 5 ♀, de 2.240 gr., reçoit, le 30 juin 1910, 1 goutte de sérum ; le 6 juillet, 2 gouttes, et le 11, ne pesant plus que 1.930 gr., 0,25 c. c. Il est alors très malade, presque complètement paralysé, et dans un tel état qu'on doit renoncer à s'en servir pour les expériences qui vont suivre. Le 13 juillet, il pesait 1.610 gr.

En somme, pour ces expériences, sur 9 lapins préparés, il n'y en eut que 3 d'utilisables, les n°s 1, 2 *bis* et 4. Ce résultat, d'ailleurs, ne nous surprenait point ; quelle que soit la prudence avec laquelle on les mène, les immunisations contre des toxines aussi nocives présentent toujours de semblables aléa.

Les expériences dont nous avons maintenant à rendre compte ont été faites les 14 et 15 juillet 1910 au laboratoire maritime du Muséum d'histoire naturelle, à Tatihou (Saint-Vaast-La Hougue)[1], où nous avons trouvé toutes facilités pour notre travail.

Nous avons d'abord déterminé la toxicité du sérum de congre

1. Nous remercions M. le professeur Ed. Perrier, directeur du Muséum, de l'hospitalité qu'il nous a donnée à ce laboratoire.

sur quelques lapins normaux, puis sur nos lapins immunisés. Nous avons, d'autre part, cherché quelle était la résistance globulaire de ces animaux. — Le sérum nécessaire a été fourni par 4 congres, pesant respectivement 1 kil. 185, 1 kil. 010, 890 et 650 gr.

Deux lapins, ♀ de 2.750 gr. et ♂ de 2.950 gr., ont succombé, le premier en 5 min. et le second en 3 min., à la suite de l'injection de 2 c. c. de sérum par kilogr. (pour le premier) et de 1 c. c. par kilogr. (pour le second).

Deux autres lapins, ♂ de 2.680 gr. et ♀ de 2.170 gr., ayant reçu 0,5 c. c. par kilog., sont morts, l'un en 43 heures, et l'autre en une douzaine d'heures.

Enfin, un animal du poids de 2.290 gr. a résisté, malgré des accidents paralytiques qui ont duré plusieurs heures et une forte hémoglobinurie, à une injection de 0,2 c. c. par kilogr. Ce même animal a succombé le lendemain en 1 h. 41, après une injection de 0,7 c. c. par kilogramme.

On peut donc admettre que la dose sûrement mortelle du sérum de congre est entre 0,5 et 1 c. c. par kilogramme d'animal.

Les accidents prédominants sont des phénomènes de paralysie. On observe en outre du myosis, de l'exophtalmie, de l'hémoglobinurie. Nous avons observé une fois une attaque clonique et une autre fois de la salivation et, au moment de la mort, une attaque clonico-tonique.

Comment se sont comportés les animaux immunisés? Voici leurs observations.

Lapin n° 1, 2.890 gr. A 4 h. 1 min. 30 sec., injection dans la veine marginale de l'oreille de 1 c. c. par kilogramme. Il tombe tout de suite sur le flanc, les quatre membres paralysés.

4 h. 3′ 30″. Quelques mouvements cloniques des pattes postérieures. Respiration courte et superficielle.

4 h. 5. Cris aigus, miction, arrêt respiratoire, suivi de quelques respirations agoniques.

4 h. 6. Arrêt de la respiration.

Cet animal est donc mort en 4 min. 30 sec.

Quant aux deux autres lapins immunisés, n° 2 *bis* et n° 4, ils ont survécu (n° 2 *bis*) à une injection de 0,5 c. c. par kilogramme et l'autre (n° 4) à une injection de 1 c.c. par kilogramme sans présenter d'accidents. Par une miction provoquée, on a constaté qu'ils n'avaient pas d'hémoglobinurie.

Le lendemain, on a réinjecté au n° 2 *bis* 2 c.c. par kilogramme. Il a parfaitement résisté à cette dose.

Actuellement, ces deux animaux sont en excellente santé.

On remarquera que le seul des lapins immunisés contre le sérum d'anguille qui ait succombé à une injection de sérum de congre est le lapin dont le poids avait régulièrement baissé dans les trois dernières semaines de l'immunisation, tombant de 3 kil. 480 (lors de la 10e injection, le 24 juin) à 3 kil. 260 (11e injection, le 29 juin), à 3 kil. 030 (12e injection le 6 juillet) et enfin à 2 kil. 900 (13e injection, le 11 juillet). On peut penser que la résistance de cet animal avait diminué. De nombreux faits nous ont montré que les animaux qui maigrissent, au cours de l'immunisation, perdent de la résistance déjà acquise.

Reste à voir comment les animaux immunisés ont résisté à l'action hématolytique du sérum de congre.

Nous avons dû d'abord déterminer la résistance globulaire de quelques lapins normaux, puisque cette détermination n'a pas été faite, que nous sachions.

Action hématolytique du sérum de congre. — Dans chacun des tubes contenant 1 c.c. d'eau salée à 0,66 p. 100, on introduit les quantités ci-dessous de sérum, puis on y fait tomber une goutte de sang pris dans le cœur (par ponction directe) :

Tube n° 1 avec sérum de congre à	1/50.	Hémolyse totale après 6 heures.
— n° 2 — —	1/100.	
— n° 3 — —	1/200.	
— n° 4 — —	1/400.	Hémolyse très forte après 6 heures.
— n° 5 — —	1/800.	
— n° 6 — —	1/1000.	

Avec le sang d'un autre animal, l'hémolyse était totale après 6 heures dans le tube contenant 1/50 et 1/100 de sérum, et légère dans tous les autres après le même laps de temps, mais très forte après 20 heures

Action hématolytique du sérum de congre sur le lapin immunisé n° 2 bis :

Tube n° 1 avec sérum de congre à	1/50.	Hémolyse totale après 6 heures.
— n° 2 — —	1/100.	
— n° 3 — —	1/200.	Traces d'hémolyse après 6 heures. Hémolyse nette après 20 heures.

Tube n° 4	—	—	1/400.	Traces d'hémolyse après 6 heures. Hémolyse nette après 20 heures.
— n° 5	—	—	1/800.	Pas d'hémolyse après 6 heures. Pas d'hémolyse après 24 heures.
— n° 6	—	—	1/1000.	Pas d'hémolyse après 6 heures. Pas d'hémolyse après 24 heures.

Action hématolytique du sérum de congre sur le lapin immunisé n° 4 :

Tube n° 1 avec sérum de congre à			1/50.	Hémolyse totale après 6 heures.
— n° 2	—	—	1/100.	Hémolyse totale après 6 heures.
— n° 3	—	—	1/200.	Hémolyse totale après 6 heures.
— n° 4	—	—	1/400.	Forte hémolyse après 6 heures. Hémolyse très nette après 20 h.
— n° 5	—	—	1/800.	Pas d'hémolyse après 6 heures.
— n° 6	—	—	1/1000.	Hémolyse légère après 20 heures.

Ainsi les globules des animaux immunisés contre le sérum d'anguille ont acquis une certaine résistance à l'action hématolytique du sérum de congre. Nous avons vu maintes fois, au cours de nos recherches sur l'immunisation contre le sérum d'anguille (*loc. cit.*), que les hématies pouvaient être protégées contre la dose de 1/100 de ce sérum. Encore que nos lapins, deux au moins d'entre eux, les n°s 2 *bis* et 4, fussent parfaitement immunisés contre la toxine de l'anguille, leurs hématies n'ont pas montré vis-à-vis de la toxine du congre une résistance aussi forte. Cette résistance néanmoins était nette.

IV. — Résumé et conclusions.

Il ressort, croyons-nous, de tous les faits rapportés ci-dessus que les animaux immunisés contre le sérum d'anguille ne résistent pas à une dose mortelle de sérum de torpille, et, *vice versa*, que ceux qui sont immunisés contre ce dernier ne résistent pas à une dose mortelle de sérum d'anguille. Cependant, alors que les hématies des animaux immunisés contre le sérum d'anguille n'ont acquis aucune résistance au sérum de torpille, celles des animaux immunisés contre ce dernier en ont acquis une, très faible il est vrai, au sérum d'anguille. Mais cette résistance est trop peu importante pour que l'on puisse, sans plus, la considérer comme spécifique.

En résumé, et d'après les faits que nous avons observés jusqu'ici, il n'y a pas immunisation réciproque vis-à-vis de ces deux sérums toxiques.

On aurait pu penser, étant donnée l'analogie des accidents dans l'une et l'autre de ces intoxications, étant donnée aussi l'importance de l'action hématolytique de ces deux ichtyotoxines qui constitue pour ainsi dire leur caractéristique, que les réactions d'immunisation provoquées par les injections de faibles doses de ces substances garderaient une spécificité commune, s'il est permis d'accoupler ces deux mots, et que les antitoxines en résultant auraient la propriété de se substituer, au moins en quelque mesure, l'une à l'autre. L'expérience prouve qu'il n'en est rien. A la vérité, les poissons Téléostéens, au groupe desquels appartient l'anguille, sont très différents des Sélaciens, parmi lesquels se place la torpille. Aussi devait-il être intéressant de chercher si, avec le sérum d'autres Téléostéens et de même espèce que l'anguille, tels que le congre (*Conger vulgaris*) ou la murène (*Muraena*), ou d'espèces même plus distantes, on n'immuniserait pas contre le sérum de l'anguille et, inversement, si avec ce dernier sérum on n'immuniserait pas contre celui du congre ou de la murène.

Les expériences que nous avons faites avec le sérum de congre sur des animaux préalablement immunisés contre le sérum d'anguille établissent que ces animaux résistent aussi au sérum de congre. L'immunité contre une toxine donnée peut donc s'étendre à la toxine d'animaux appartenant au même groupe que celui qui produit la première. La spécificité de l'antitoxine formée sous l'action de l'une de ces toxines n'est donc pas absolue; ses limites néanmoins doivent être étroites. C'est ce que d'autres expériences nous apprendront peut-être.

XXI

DE L'ACTION DU SÉRUM D'ANGUILLE SUR LE CHAT *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Nous avons montré, il y a déjà longtemps, que, chez diverses espèces animales, les globules rouges possèdent une résistance naturelle assez grande à l'action hémolytique du sérum d'anguille[1]; c'est ce qui arrive chez le hérisson, la chauve-souris (*Vespertilio murinus*), le pigeon et la poule, la tortue (*Testudo græca*), la grenouille (*Rana temporaria*, *R. esculenta*) et le crapaud (*Bufo vulgaris*); en même temps, nous avons vu que ces animaux (hérisson du moins et pigeon) sont moins sensibles à l'action toxique du sérum d'anguille que les animaux (lapin, cobaye, etc.), dont les hématies sont peu résistantes. Nous avons, d'autre part, trouvé que la marmotte, animal hibernant comme le hérisson, a des globules très résistants à ce poison et cependant est très sensible à son action générale[2]. Ainsi nous avons dissocié nettement l'action hémolytique de l'action toxique générale du sérum d'anguille.

Voici maintenant un autre animal, appartenant à une espèce très différente, un carnivore, le chat, dont les globules présentent une résistance presque aussi grande que celle des globules de la marmotte à cette action hémolytique et qui, néanmoins, comme

* *C. R. de la Soc. de Biol.*, 22 juillet 1911, t. LXXI, p. 158.

1. L. Camus et E. Gley : *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 24 juillet 1899, p. 231, et *Ann. de l'Institut Pasteur*, t. XIII, p. 779-787; 1899.

2. L. Camus et E. Gley : *Arch. intern. de pharmacodynamie et de thérapie*, t. XV, 159-169; 1905.

la marmotte aussi, succombe à des doses très faibles d'ichtyotoxine.

D'après nos expériences, en effet, les hématies du chat ne commencent à laisser diffuser leur hémoglobine que dans des dilutions de sérum d'anguille à 1 p. 100; encore l'hémolyse, dans ces dilutions, est-elle très légère, même après 20 h.; elle est plus nette, mais encore très faible, dans les dilutions à 1 p. 50; une fois seulement, nous avons vu se produire des traces d'hémolyse dans les dilutions à 1 p. 200 et 1 p. 400.

Or, ce même animal est très sensible à l'action toxique du sérum d'anguille, en injection intra-veineuse. Une dose d'un sérum donné, non mortelle pour un lapin ou qui ne le tue qu'en 12 ou 24 heures ou même plus, tue le chat en 10 ou 20 minutes. D'après nos expériences, la dose sûrement mortelle pour le chat est de 0,05 c.c. par kilogramme [1], pour un sérum qui tue le lapin à la dose de 0,1 c.c. ou 0,2 c.c. par kilogramme. Une injection préalable d'atropine n'empêche pas la mort. Les principaux symptômes observés rappellent ceux que nous avons décrits en 1905 chez la marmotte (L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*).

Cette sensibilité du chat au sérum d'anguille paraît d'autant plus intéressante que cet animal manifeste, au contraire, une grande résistance aux venins (expériences de Billard) [2]; et l'on sait que les venins et les sérums toxiques ne laissent pas de présenter des analogies. Preuve de plus qu'il faut donc se garder, dans les recherches sur l'immunité, de toute généralisation *a priori*.

1. La dose sûrement mortelle pour la marmotte (L. Camus et E. Gley, *loc. cit.*), 0,03 c.c. par kilogr., se rapproche de celle-ci.
2. G. Billard : *C. R. de la Soc. de Biol.*, 29 octobre 1910, p. 318.

XXII

SUR LE MÉCANISME DE L'ACTION HÉMOLYTIQUE DU SÉRUM D'ANGUILLE *

Par **L. CAMUS** et **E. GLEY**

Depuis l'époque où nous avons découvert la puissante action hémolytique du sérum d'anguille et l'action antagoniste du sérum des animaux immunisés contre l'ichtyotoxine[1], l'étude des phénomènes d'hémolyse et d'anti-hémolyse a pris le plus grand développement. Contrairement aux idées qu'ont imposées surtout les travaux de Bordet et ceux d'Ehrlich sur les sérums hémolytiques en général, nous avons toujours admis que le sérum d'anguille exerce une action hémolytique *directe*, c'est-à-dire que l'hémolyse qu'il détermine se produit suivant un mécanisme simple, non séparable en deux facteurs (*sensibilisatrice et complément*) ayant réciproquement besoin pour provoquer l'effet globulicide de leur influence respective[2].

* *C. R. de l'Acad. des Sc.*, 10 juin 1912, t. CLIV, p. 1630.

1. L. Camus et E. Gley : De l'action destructive d'un sérum sanguin sur les globules rouges d'une autre espèce animale (*C. R. de l'Acad. des Sc.*, t. CXXVI, p. 128, 31 janvier 1898). — Recherches sur l'action physiologique du sérum d'anguille. Contribution à l'étude de l'immunité naturelle et acquise (*Arch. intern. de pharmacodynamie*, 1898, t. V, p. 247-305.

2. Hans Sachs (Antigene tierischen Ursprunges, in *Handbuch der Tecknik und Methodik Immunitätsforschung*, t. I, Iéna, 1908, p. 248) a considéré les poisons des crapauds et des araignées comme des « hémotoxines pures » (c'est ce que nous appelons hémolysines directes) et il tend aussi à ranger dans cette catégorie le sang d'anguille : « Zu den echten tierischen Toxine wäre schliesslich noch das Gift des Aalblutes (Ichthyotoxin) zu rechnen » (*loc. cit.*, p. 274). Dans son remarquable article Hémolyse (1909) du *Dictionn. de physiologie* de Richet, Nolf présente la même thèse : « La substance toxique du sérum d'anguille semble être simple. On n'a pu jusqu'ici la scinder en un anticorps (sensibilisatrice) et un complément » (*loc. cit.*, p. 457).

Nous réunissons et groupons ici les différentes séries d'expériences que nous avons eu maintes fois l'occasion de faire à ce sujet, et dont nous n'avions pas encore présenté l'ensemble.

1° *Le sérum d'anguille qui hémolyse rapidement le sang du lapin agit avec une égale activité sur les globules lavés.*

Le sérum d'anguille manifeste toute son activité sur des globules de lapin soigneusement lavés, cinq ou six fois de suite, dans l'eau salée à 8 p. 1.000, c'est-à-dire débarrassés complètement de toutes les substances de leur plasma. L'expérience comparative a toujours été réalisée et l'action du même sérum d'anguille sur les globules non lavés du même lapin s'est montrée identique. On peut faire l'expérience de façon très démonstrative : on soumet un échantillon de sang à huit centrifugations successives; à chaque centrifugation, on prélève une gouttelette de globules sur lesquels on fait agir chaque fois la même quantité de sérum d'anguille ; chaque fois, l'action hémolytique a été la même. — On peut se servir pour cette expérience de globules de lapin préalablement et fortement immunisé contre le sérum d'anguille ; ces globules sont lavés avec soin ; ils sont également détruits par le sérum aux mêmes dilutions. Quelquefois, il est vrai, on trouve des globules qui ont, de par l'immunisation, acquis une résistance propre[1]; les lavages répétés ont certainement enlevé toute l'antitoxine qu'ils pouvaient retenir, ils n'en résistent pas moins à l'action hémolytique; mais c'est là un cas particulier, facile à reconnaître.

La propriété hémolytique du sérum d'anguille est donc indépendante de la présence du plasma sanguin qui baigne les globules sur lesquels il agit et les constituants de ce plasma ne paraissent rien ajouter à son action.

2° *Le chauffage à* 58°, *qui supprime l'action hémolytique du sérum d'anguille, ne fait pas disparaître cette propriété en détruisant une alexine analogue à celle des sérums de cobaye et de lapin.*

Le sérum d'anguille chauffé 15 m. à 58° a perdu tout pouvoir hémolytique sur les globules rouges du lapin. En ajoutant à ce sérum du sérum frais de lapin, c'est-à-dire le complément duquel on peut penser qu'il a été privé par le chauffage, on ne voit jamais reparaître le pouvoir hémolytique. Le mélange des deux sérums ne détermine qu'une

1. L. Camus et E. Gley, *loc. cit.* et aussi H. Kossel (*Berl. klin. Wochens.*, 14 février 1898).

très légère hémolyse après 24 heures, identique à celle qui se produit au bout du même temps dans un tube témoin (globules de lapin dans l'eau salée à 8 p. 1.000) et beaucoup moins forte que celle qui se produit dans le sérum de lapin normal.

In vivo, du reste, l'injection à des lapins de sérum d'anguille chauffé, à la dose de 0 c.c. 4 par kilogramme d'animal (dose hypertoxique du sérum non chauffé), mélangé avec 4 c.c. de sérum de lapin, ou même à la dose de 0,7 c.c. par kilogramme, également additionné de 2 ou de 4 c.c. de sérum de lapin, ne provoque aucun accident. Ainsi, l'alexine de ce sérum est incapable de réactiver le sérum d'anguille chauffé.

Les globules de lapin mis en contact avec du sérum d'anguille chauffé ne dévient pas le complément.

Les globules de lapin mis en contact avec du sérum d'anguille chauffé qui ne sont pas hémolysés par addition de sérum de cobaye normal ne fixent pas l'alexine de ce sérum.

En effet, si à des globules de lapin restés en contact avec du sérum d'anguille chauffé, puis additionné de sérum normal de cobaye, on ajoute des globules de mouton sensibilisés au sérum anti-mouton, ces derniers globules se détruisent dans ce mélange comme en présence de sérum de cobaye seul. Les doses de sérum de cobaye employées pour cette recherche ont été reconnues par des expériences préalables comme juste suffisantes pour hémolyser les globules de mouton sensibilisés.

Enfin, *le sérum d'anguille n'est pas hémolytique parce que son alexine est plus active que l'alexine des autres sérums.*

En effet, des globules de mouton sensibilisés avec du sérum anti-mouton chauffé ne sont pas détruits plus activement par le sérum d'anguille que des globules non sensibilisés; la limite inférieure de l'activité du sérum est à peu près la même dans les deux cas. On doit donc admettre que l'alexine du sérum d'anguille n'est pas plus active que l'alexine du sérum de cobaye ou du moins qu'elle est de nature différente et qu'elle ne peut être identifiée avec celle-ci.

3° *Dans le sérum d'anguille chauffé, il ne reste pas de sensibilisatrice*[1]. *On ne peut du moins sensibiliser des globules de lapin*

1. Une curieuse expérience de A. Frouin (*C. R. de la Soc. de Biol.*, 24 octobre 1908, p. 355) a déjà montré l'absence de sensibilisatrice dans le sérum d'anguille.

par un contact plus ou moins prolongé avec ce sérum préalablement porté à 58° pendant un quart d'heure; ils ne sont nullement détruits quand on les met en contact avec du sérum de cobaye ou de lapin.

Des globules de lapin, lavés dans l'eau salée à 8 p. 1.000 à cinq ou six reprises, puis sensibilisés par du sérum d'anguille chauffé (à 38° pendant un quart d'heure) et centrifugés ne sont nullement détruits quand on les met en contact avec du sérum de lapin normal. Nous avons des expériences dans lesquelles parties égales de globules ou de sérum d'anguille chauffé ont été en présence pendant des temps variables, avant que ces globules, supposés ainsi sensibilisés dans les meilleures conditions, fussent soumis à l'action de l'alexine du sérum de lapin. Cette alexine n'en est pas moins restée sans effet.

Toutes ces expériences montrent donc que nous n'avons pu séparer en deux facteurs l'agent hémolytique du sérum d'anguille. Celui-ci constitue une hémotoxine pure ou hémolysine directe.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.



Paris. — L. MARETHEUX, imp., 1, r. Cassette.